

SÉRIE A, N° 3705.
N° D'ORDRE : 4556.

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Pascal LISSOUBA

Ingénieur d'Agriculture, Licencié ès Sciences Naturelles

Première thèse. — MISE EN ÉVIDENCE D'UNE UNITÉ GÉNÉTIQUE POLARISÉE ET ESSAI D'ANALYSE D'UN CAS D'INTERFÉRENCE NÉGATIVE.

Deuxième thèse. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 25 MAI 1961 **devant la Commission d'examen :**

M. B. EPHRUSSI..... *Président.*

M. Ph. L'HERITIER.... } *Examineurs.*
M. G. RIZET..... }

PARIS

MASSON ET C^{IE}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 120

1961

SÉRIE A, N° 3705.
N° D'ORDRE : 4556.

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Pascal LISSOUBA

Ingénieur d'Agriculture, Licencié ès Sciences Naturelles

Première thèse. — MISE EN ÉVIDENCE D'UNE UNITÉ GÉNÉTIQUE POLARISÉE ET ESSAI D'ANALYSE D'UN CAS D'INTERFÉRENCE NÉGATIVE.

Deuxième thèse. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le

devant la Commission d'examen :

M. B. EPHRUSSI..... *Président.*

M. Ph. L'HERITIER....

M. G. RIZET.....

} *Examineurs.*

PARIS

MASSON ET C^{IE}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 120

===== 1961 =====

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Doyen. J. PÉRÈS.

PROFESSEURS

MM.		MM.	
G. JULIA.	T Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	VASSY	T Physique de l'Atmosphère.
DE BROGLIE	T Théories physiques.	DESTOUCHES	T Théories physiques.
PRENANT.	T Anatomie et Histologie comparées.	PRUVOST	T Géologie.
PÉRÈS	T Mécanique des fluides et applications.	AMIEL	T Chimie des solides.
BOURCART	T Géographie physique et Géologie dynamique.	HOCART	T Minéralogie et Cristallographie.
PLANTEFOL	T Botanique.	J.-P. MATHIEU	T Recherches physiques.
GRASSÉ.	T Évolution des êtres organisés.	COUTEAUX	T Biologie animale (P. C. B.).
PRÉVOST	T Chimie organique.	MAY.	T Zoologie (Orsay).
BOULIGAND.	T Analyse appliquée à la géométrie.	CHOQUET.	T Théorie des fonctions et Topologie.
CHAUDRON	T Chimie appliquée.	FELDMANN	T Biologie végétale (P. C. B.).
WYART.	T Minéralogie et Cristallographie.	GUINIER	T Physique des solides (Orsay).
TEISSIER	T Zoologie.	JOST.	T Physiologie comparée.
MANGENOT	T Biologie végétale (Orsay).	FORTET.	T Calcul des probabilités.
AUGER.	T Physique quantique et Relativité.	SCHWARTZ.	T Calcul différentiel et intégral.
MONNIER.	T Physiologie des fonctions.	CHOUARD.	T Physiologie végétale.
PIVETEAU.	T Paléontologie.	MALAVARD	T Aviation (Technique aéronautique).
ROCARD	T Physique (E. N. S.).	BRELOT.	T Calcul différentiel.
CARTAN.	T Mathématiques (E. N. S.).	NORMANT.	T Synthèse organique générale.
LAFFITTE.	T Chimie générale.	BENARD	T Chimie (E. N. S. C. P.).
FAYARD	T Géométrie supérieure.	BUVAT	T Botanique (E. N. S.).
COULOMB.	T Physique du Globe.	DUGUÉ.	T Statistiques mathématiques.
M ^{lle} COUSIN.	T Biologie.	SOULAIRAC	T Psychophysiologie.
CHRÉTIEN.	T Chimie minérale.	ULRICH.	T Physiologie végétale (E. N. S.).
DRACH.	T Zoologie.	MARÉCHAL	T Optique théorique et appliquée.
KASTLER	T Physique (E. N. S.).	KIRRMANN	T Théories chimiques.
EPHRUSSI.	T Génétique.	CHADEFAUD.	T Botanique.
RIVIÈRE	T Géologie (Orsay).	M ^{lle} LE BRETON.	T Physiologie.
GAUTHERET.	T Biologie (P. C. B.).	SALEM	T Mathématiques générales.
LUCAS (R.).	T Recherches physiques.	LELONG.	T Mathématiques générales.
THOMAS (A.).	T Biologie cellulaire.	DEVILLERS	T Anatomie et Histologie comparées.
ARNULF.	T Optique appliquée.	EHRESMANN.	T Topologie algébrique.
MORAND	T Physique Enseignement.	FRANÇON.	T Physique (S. P. C. N.).
SOLEILLET	T Physique (P. C. B.).	GLANGEAUD.	T Géographie physique et Géologie dynamique.
FORTIER	T Mécanique expérimentale des fluides.	GODEMENT	T Mathématiques (M. P. C.).
DANJON	T Astronomie.	PISOT	T Calcul des probabilités.
PETIT	T Biologie maritime.	ROCH.	T Géologie.
QUENEY	T Météorologie et dynamique atmosphérique.	SCHATZMAN.	T Astrophysique.
GALLIEN	T Embryologie.	TERMIER	T Paléontologie stratigraphique.
EICHORN.	T Biologie végétale (P. C. B.).	ZAMANSKY	T Mathématiques générales.
DE CUGNAC.	T Biologie végétale (S. P. C. N.).	LENNUIER	T Physique (P. C. B.).
M ^{lle} CAUCHOIS	T Chimie physique.	RIZET	T Génétique (Orsay).
THELIER.	T Physique du Globe.	ROUTHIER	T Géologie appliquée.
L'HÉRITIER.	T Biologie générale (Orsay).	M ^{me} TONNELAT	T Relativité.
GRIVET.	T Radioélectricité (Orsay).	DIXMIER	T Mathématiques (M. P. C.).
PONCIN.	T Mécanique générale.	SOUGHAY.	T Chimie (P. C. B.).
DUBREIL.	T Arithmétique et Théorie des nombres.	AIGRAIN	T Électrotechnique générale
QUELET.	T Chimie organique.	BRUSSET	T Chimie minérale.
CAGNIARD	T Géophysique appliquée.	M. LÉVY.	T Physique théorique des hautes énergies (Orsay).
CHAMPETIER.	T Chimie macromoléculaire.	M ^{me} CHAIX.	T Chimie biologique.
CUVILLIER	T Micropaléontologie.	M ^{me} HUREL-PY.	T Biologie végétale (P. C. B.).
JUNG.	T Pétrographie.	PIAUX	T Chimie (S. P. C. N.).
TRILLAT	T Microscopie et diffraction électronique.	BRUN.	T Mécanique expérimentale des fluides.
WIEMANN.	T Chimie organique et structurale.		
JACQUINOT	T Spectroscopie (Orsay).		



MM.	
LEDERER.	T Chimie biologique.
M ^{me} DUBREIL.	T Mathématiques (Agrég.).
M ^{me} LELONG.	T Mathématiques (E. N. S.).
BELLAIR.	T Géologie (S. P. C. N.).
COTTE.	T Physique (M. P. C.).
DUBOIS (J.-E.).	T Chimie (M. P. C.).
LAMOTTE.	T Zoologie (E. N. S.).
MICHEL (André).	T Chimie minérale (Orsay).
OLMER.	T Énergétique générale.
ROUAULT.	T Physique.
GAUTHIER.	T Mécanique appliquée.
BARCHEWITZ.	T Chimie physique.
BROSSEL.	T Physique atomique.
BUSER.	Biologie animale (P. C. B.).
CAMUS.	Biologie végétale (P. C. B.).
CASTAING.	T Physique (Orsay).
CURIEN.	T Minéralogie et Cristallographie.
MOYSE.	T Physiologie végétale (Orsay).
PANNETIER.	T Chimie (Orsay).
POSSOMPES.	T Biologie animale (P. C. B.).
PULLMANN.	Chimie théorique.
TEILLAC.	T Physique nucléaire et Radioactivité (Orsay).
TONNELAT.	Biologie physico-chim.
VILLE.	T Économétrie.
WILLEMART.	Chimie (P. C. B.).
DODE.	T Chimie (Orsay).
FREYMANN.	T Physique (S. P. C. N.).
GUINOCHE.	T Biologie végétale (Orsay).
ROLLET.	T Chimie (P. C. B.).
M ^{lle} JOSIEN.	T Chimie (P. C. B.).
CHEVALLEY.	T Géométrie algébrique et Théorie des groupes.
ARNOULT.	T Électronique (Orsay).
CHAPELLE.	T Physique (Orsay).
DELANGE.	T Mathématiques (Orsay).
DENY.	T Mathématiques générales (Orsay).
GERMAIN.	T Mécanique théorique des fluides.
LUCAS (G.).	T Géologie.
ALLARD.	T Chimie physique.
BERTHELOT.	T Physique fondamentale des Hautes énergies (Orsay).
BRICARD.	T Météorologie.
M ^{me} ALBE-FESSARD.	Psychophysiologie.
FRIEDEL.	Physique des solides (Orsay).
M. JULIA.	Chimie organique structurale.
LENDER.	Biologie animale (S. P. C. N.) (Orsay).
MAGAT.	Physico-chimie des rayonnements.
M ^{lle} QUINTIN.	T Electrochimie.
MONOD.	T Biochimie cellulaire.

MM.	
BENOIT.	T Physiologie animale (Orsay).
DE POSSEL.	T Analyse numérique.
CHARLOT.	T Chimie analytique.
HAISSINSKY.	T Radiochimie.
LEMÉE.	T Physiologie (B. M. P. V.) (Orsay).
GUÉRIN.	T Chimie (Orsay).
CHATELET (M.).	Chimie (P. C. B.).
JEAN.	Physique (Orsay).
MATTLER.	T Physique (Orsay).
MICHEL (Louis).	Physique théorique (Orsay).
RUMPF.	Chimie (P. C. B.).
BERGERARD.	Biologie animale (S. P. C. N.) (Orsay).
BERTEIN.	Électronique (Orsay).
BOUSSIÈRES.	Chimie des radioéléments (Orsay).
M ^{me} COUTURE.	Thermodynamique et Mécanique physique.
ELLENBERGER.	Géologie appliquée.
FRANC.	Biologie animale (P. C. B.).
SCHNELL.	Botanique tropicale (Orsay).
STOLKOWSKI.	Biologie animale (P. C. B.).
ACHER.	Chimie biologique (Orsay).
BAUDOIN.	Biologie.
BEAUMONT.	Biologie animale.
BLAMONT.	Géophysique ionosphère.
BOURREAU.	Biologie végétale (S. P. C. N.) (Orsay).
CURIE (D.).	Physique (M. G. P.).
DURAND-DELGA.	Géologie.
FRÉON.	Chimie organique (Orsay).
HELLER.	Physiologie végétale.
TORTRAT.	Calcul des probabilités.
CAILLEUX.	Géologie (S. P. C. N.).
MAGNAN.	T Physique (P. C. B.).
DAUDEL.	Mécanique ondulatoire appliquée à la Chimie théorique et à la Physique nucléaire.
M ^{lle} FOURCROY.	Biologie végétale (S. P. C. N.).
BARRAUD.	Physiologie cellulaire.
NOIROT.	Évolution des êtres organisés.
M ^{me} FOURES-BRUHAT.	T Mécanique analytique et mécanique céleste.
M ^{lle} VEIL.	Physiologie générale.
LWOFF.	T Microbiologie.
SIESTRUNCK.	T Mécanique physique et expérimentale.
LACOMBE.	T Métallurgie (Orsay).
BROCHARD.	T Physique (P. C. B.) (Orsay).
CABANNES.	T Mécanique générale.
LESIEUR.	T Mathématiques (M. P. C.) (Orsay).
MAZET.	T Mécanique générale (Orsay).

Secrétaire général R. POUILLAIN.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

MISE EN ÉVIDENCE D'UNE UNITÉ GÉNÉTIQUE POLARISÉE ET ESSAI D'ANALYSE D'UN CAS D'INTERFÉRENCE NÉGATIVE

Par

Pascal LISSOUBA

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	645
PREMIÈRE PARTIE. — MATÉRIEL, TECHNIQUES ET MÉTHODE D'ÉTUDE.....	649
DEUXIÈME PARTIE. — ANALYSE GÉNÉTIQUE DE LA SÉRIE 46.....	655
<i>Chapitre premier. — Étude des mutants 46, W, 63, 137, 138 et 188. Mise en évidence d'une unité génétique polarisée: le polaron</i>	655
1 ^o Étude des croisements entre les divers mutants	655
2 ^o Analyse génétique des asques 6:2 et mise en évidence du polaron.....	658
3 ^o Recherche des recombinants double-mutants	660
<i>Chapitre II. — Analyse des croisements entre les divers mutants du polaron et une même souche sauvage</i>	662
1 ^o Buts de l'expérience	662
2 ^o Existence de ségrégations 3:1 et 1:3 dans les croisements 137 × sauvage.	663
3 ^o Fréquence des asques 6:2 et 2:6 en fonction de la position des sites sur le polaron.....	666
4 ^o Rapport entre l'état hétérozygote et les fréquences de conversion.....	670
5 ^o Conclusion	670
<i>Chapitre III. — Problèmes posés par l'existence d'un site extérieur au polaron.</i>	671
1 ^o Localisation du site 277	671
2 ^o Analyse génétique des asques 7:1	673
3 ^o Analyse génétique d'un asque 4:4	674
<i>Chapitre IV. — Interférence négative au sein de la série 46</i>	677
1 ^o Fréquence des recombinants sauvages dans les croisements 63.277 et W, 137 ou 138	678
2 ^o Résultats de l'analyse des tétrades avec recombinants sauvages issues des croisements entre 63.277 et 137 ou 138	680
ANN. DES SC. NAT., BOT., 12 ^e série, 1960.	I, 44

<i>Chapitre V. — Influence de la température sur la fréquence des conversions et des crossing-over</i>	683
1° Généralités	683
2° Variation de fréquence des conversions	684
3° Variation de fréquence des crossing-over	686
<i>Chapitre VI. — Deux mutants à comportement aberrant B et 188</i>	688
1° Anomalies de comportement du mutant <i>B</i>	688
2° Anomalies de comportement du mutant <i>188</i>	690
TROISIÈME PARTIE. — DISCUSSION DES RÉSULTATS	693
I. — <i>Diverses modalités des phénomènes de recombinaison chez Ascobolus immersus</i>	695
II. — <i>Notion de polaron et structure du matériel génétique</i>	698
III. — <i>Interférence négative</i>	703
1° Interférence négative et structure du matériel génétique.....	704
2° Interférence négative et recombinaisons	704
IV. — <i>Conclusions générales</i>	706
RÉSUMÉ	709
BIBLIOGRAPHIE.....	717

A MA TRÈS CHÈRE ÉPOUSE.

A MON MAITRE, M. LE PROFESSEUR RIZET
EN TÉMOIGNAGE DE MA PROFONDE
RECONNAISSANCE.

AVANT-PROPOS

Les recherches qui font l'objet du présent mémoire ont été accomplies au Laboratoire de Génétique Physiologique du Centre National de la Recherche Scientifique, dirigé par M. le professeur EPHRUSSI. C'est pour moi un agréable devoir de lui exprimer ici ma très vive reconnaissance pour avoir bien voulu m'accueillir, puis consacrer une part de son temps à réviser mon manuscrit et finalement lui apporter sa caution en acceptant de présider ce jury.

Ma gratitude s'adresse également à M. le professeur L'HÉRITIER pour ses conseils judicieux et ses critiques constructives, et surtout pour la part qu'il a prise dans l'amélioration de la présentation de nos résultats et de nos conclusions.

M^{me} GANS et M. CHEVAUGEON, maîtres de conférences à la Sorbonne, M^{me} BEISSON, attachée de recherches, m'ont amicalement guidé pour la mise en forme définitive de mon texte ; qu'ils en soient ici cordialement remerciés.

La première phase de ce travail fut collective ; que nos collègues et nos camarades, M^{mes} BIELAVSKA, JOB et LEFORT, MM. BONCIARELLI, FRATELLO, MOUSSEAU et ROSSIGNOL soient amicalement remerciés de leur aide constante.

Je ne saurais oublier M. DESJARDINS, chargé de Recherches de l'O. R. S. T. O. M. pour ses avis dans le domaine statistique, ni mon compatriote et ami M. MOUNTHAULT, ingénieur des Travaux publics, pour la réalisation des figures qui éclairent le texte, ni les collaborateurs techniques qui accomplirent toujours avec dévouement des tâches souvent ingrates.

M. le professeur MANGENOT a facilité mon entrée au C. N. R. S., puis à l'O. R. S. T. O. M., MM. SRIBER et ZIEGLE, directeur général et directeur scientifique de l'Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer, m'ont accordé libéralement toutes les facilités pour achever ce travail. M. le professeur EMBERGER, correspondant de l'Institut, a accepté de le publier dans les *Annales des Sciences Naturelles* ; qu'ils voient tous ici l'expression de ma gratitude.

Mais je tiens à réserver, dans mes remerciements, une place toute particulière à M. le professeur RIZET. Je lui dois, et lui conserverai, ma plus

profonde reconnaissance : la confiance qu'il m'a témoignée dès le début de ces travaux et son affectueuse sympathie m'ont constamment soutenu, sa grande expérience et ses critiques bienveillantes m'ont constamment orienté vers les voies les plus fécondes. Je ne puis espérer, ni ne veux souhaiter, être jamais quitte d'une dette aussi lourde, mais qu'il me soit permis de lui assurer, modestement, que je crois avoir acquis de lui non seulement une formation scientifique, mais, mieux, une formation d'« homme ».

INTRODUCTION

Il est actuellement reconnu que le support matériel de l'information génétique est, à l'échelle moléculaire, constitué par l'acide désoxyribonucléique (A. D. N.). De plus, depuis les travaux de WATSON et CRICK (1953), on admet que chaque molécule d'A. D. N. se présente sous la forme d'une double hélice polynucléotidique dont les deux éléments, qualifiés de « sub-unités » par TAYLOR (1958), sont asymétriques et complémentaires.

Mais ce qui demeure très obscur, indépendamment du mode de transmission de l'information, c'est la structure du chromosome lui-même et en particulier l'agencement des molécules d'A. D. N. C'est ce que déplore CRICK (1955) lorsqu'il écrit : « There is an appalling lack of knowledge on the structure of the chromosome as soon as we get above the molecular scale, and geneticists are *unable to state clearly what the problems of chromosomes replication and recombination are which have to be explained in terms of physical chemistry.* » C'est ce que souligne également PONTECORVO (1958) lorsqu'il constate, en substance, qu'il ne semble pas possible, pour l'instant, de « concilier » l'essentiel des résultats concernant la méiose, les recombinaisons intrachromosomiques et les modèles physico-chimiques proposés.

Il faut admettre, à la décharge des généticiens, que de telles tentatives de « conciliation » ne peuvent être que spéculatives, tant que l'*analyse génétique* ne permet pas de reconnaître des *structures superposables* ou *comparables à la molécule d'A. D. N.*

Malheureusement le gène « classique » défini comme une entité par MORGAN (1926) et MULLER (1928) ne pouvait jouer ce rôle de structure génétique, car, très tôt, son *locus* s'est révélé si complexe (DUBININ, 1933 ; LEWIS, 1945 ; PONTECORVO, 1952 ; DEMEREC, 1956) qu'il ne peut actuellement être mis en parallèle avec aucune structure physico-chimique simple. C'est ce qui ressort des travaux de BENZER (1955, 1957), dont les résultats précisent très nettement que le terme *gène* recouvre des notions très différentes les unes des autres : unité de fonction (*cistron*), unité de recombinaison (*recon*), ou unité de mutation (*muton*).

Le but de l'analyse de BENZER était, sans conteste, le souci de rechercher une relation entre la carte génétique linéaire et sa contrepartie moléculaire, ce qui devait permettre de « convertir la longueur génétique mesurée en fréquence de recombinaison en longueur moléculaire mesurée, elle, en termes nucléotidiques ». L'auteur cherchait ainsi, en particulier, la solution du problème posé plus haut, c'est-à-dire la mise en évidence d'une *structure génétique* de même grandeur que la molécule d'A. D. N.

Cette question peut être abordée par les méthodes de la génétique formelle si l'on utilise un matériel réunissant des conditions bien précises. Il est nécessaire de faire appel à un organisme ayant un cycle court et produisant un très grand nombre de descendants. Il convient aussi de réunir des séries d'allèles nombreux, correspondant à un phénotype bien défini. Les mutants utilisés doivent, croisés entre eux deux à deux, conduire à des recombinants facilement décelables et à fréquence mesurable, même si les recombinaisons sont rares ou très rares. Enfin, impératif qui n'a été que trop rarement réalisé : même si les recombinaisons sont rares, leur origine étant capitale, il est nécessaire de pouvoir les déceler dans les *tétrades* qui les contiennent afin de procéder à l'analyse génétique de celles-ci.

Les « séries » de mutants à spores blanches de l'Ascomycète octosporé *Ascobolus immersus* (RIZET et coll., 1960) permettent de satisfaire une part importante de ces desiderata. En particulier, dans les croisements entre mutants, les recombinants sauvages sont immédiatement visibles dans les tétrades qui les contiennent. On peut alors en apprécier la fréquence (même si elle est voisine de 10^{-5}), et procéder à l'analyse génétique de ces tétrades.

L'étude d'une de ces séries, la série 46, qui groupe un certain nombre de sites mutationnels, nous a permis d'apporter une contribution précise aux problèmes soulevés plus haut.

Nous avons pu définir un segment chromosomique *linéaire, ne subissant que des échanges non réciproques (conversions)*, et surtout *polarisé*. Il s'agit d'une unité génétique nouvelle que nous avons appelée *polaron* et dont les propriétés peuvent être rapprochées avec fruit de ce que l'on sait de la structure de la molécule d'A. D. N.

L'obtention d'un site mutant très voisin des précédents, mais non intégré au polaron, nous amène, en tenant compte d'autres faits connus maintenant chez le même organisme, à admettre que le matériel génétique correspondant à une même série est constitué de plusieurs polarons contigus, séparés les uns des autres par ce que nous appelons une *structure de liaison* au niveau de laquelle se produit le *crossing-over*.

L'étude des croisements hétérozygotes pour trois couples de sites mutants appartenant à une même série apporte aussi diverses informations concernant la *replication* et l'*interférence négative*, dont une interprétation est esquissée.

Notre exposé sera conduit de la manière suivante :

Dans une première partie, nous présenterons le matériel utilisé, les techniques et les méthodes d'étude.

La deuxième partie, la plus importante, sera consacrée à une analyse génétique de la série. Lorsque nous aurons établi la notion de polaron (chap. I), l'analyse des croisements *sauvage* $\times$ *mutant* nous conduira à

une vérification de certaines propriétés de l'unité précédemment définie (chap. II). L'étude des croisements impliquant un site extérieur au polaron nous amènera à préciser la localisation du crossing-over, puis la structure du matériel génétique correspondant à la série (chap. III). L'étude systématique des doubles événements, réalisée grâce aux croisements hétérozygotes pour trois couples de sites distincts, nous mettra en présence d'un cas d'*interférence négative* que nous essayerons d'interpréter (chap. IV). Conversions et crossing-over étant différemment localisés, il nous sera possible d'étudier les variations de fréquence de l'un et l'autre de ces processus en fonction de la température (chap. V). Enfin, quelques indications seront données sur deux mutants à comportement aberrant (chap. VI).

Nous ne pouvons songer à discuter — *troisième partie* — tous les points abordés au cours de ce travail ; certains sont encore en cours d'étude chez le même organisme dans plusieurs séries. La discussion, qui fait l'objet de la troisième partie, sera donc limitée à quelques problèmes :

- Divers aspects du phénomène de *recombinaison* ;
- Rapport entre *polaron* et *molécule d'A. D. N.* ;
- *Interférence négative*.

Enfin, un *résumé* groupera l'ensemble des résultats acquis au cours de ce travail.

PREMIÈRE PARTIE

MATÉRIEL. TECHNIQUES ET MÉTHODE D'ÉTUDE

8

1° « *Ascobolus immersus* » Pers.

Les Champignons du genre *Ascobolus* sont des Discomycètes coprophiles dont plusieurs ont déjà fait l'objet d'études génétiques portant soit sur la bipolarité (plusieurs sont hétérothalliques), soit sur les rapports entre l'hétérothallisme et la sexualité (BETTS et MEYER, 1939; DODGE et SEAVER, 1946; DODGE, 1940; BISTIS, 1954, 1956), soit encore sur l'hérédité de caractères exprimés par les ascospores et conduisant à des ségrégations visibles dans l'asque (RIZET, 1939; BISTIS, *loc. cit.*).

Dans les diverses espèces du genre, les asques sont octosporés. La disposition des ascospores dans l'asque n'est que très imparfaitement linéaire, mais ceci ne constitue pas un handicap majeur pour le généticien, et DODGE, depuis longtemps déjà, a attiré l'attention sur l'intérêt de ces organismes.

L'une des espèces du genre, *Ascobolus immersus*, est très fréquente sur les excréments d'Herbivores. On peut la reconnaître à la grande taille de ses ascospores (65 à 75 μ de long) et l'obtenir très facilement en culture pure.

Du point de vue biologique, cette espèce est caractérisée par son hétérothallisme bipolaire et une très grande hétérogénéité génétique qui se traduit, en particulier, dans les croisements entre souches d'origines différentes, par de nombreux avortements d'ascospores. On trouve cependant des souches ne montrant pratiquement pas d'anomalies; c'est l'une d'elles, isolée par RIZET, qui a été utilisée dans le présent travail.

Il est très facile de vérifier sur le vivant le caractère uninucléé de chacune des ascospores en les observant dans les asques très jeunes, encore inclus profondément dans la masse de l'apothécie. Plus tard, la taille de l'asque augmente rapidement et il fait saillie au-dessus de la fructification; à ce stade, les spores primitivement incolores se pigmentent en violet, puis en noir. Le pigment synthétisé dans l'épiplasme ne se dépose que secondairement sur la membrane de l'ascospore où il laisse subsister des sillons caractéristiques (LE GAL, 1944). Très rapidement l'asque s'hypertrophie, devient rigide et émerge presque complètement. La lumière accélère ce mécanisme; bientôt, l'asque éclate et les huit ascospores sont éjectées avec violence, mais demeurent groupées. A la surface de chaque apothécie, on observe rarement plus de quatre ou cinq

asques mûrs et leur éclatement n'est jamais simultané. Mais une même fructification et, d'une manière plus générale, un même thalle, peuvent produire des asques pendant huit à quinze jours selon la température.

2   Récolte des asques.

Mettant à profit le mécanisme de dissémination des ascospores, nous les recueillons, groupées, de la manière suivante : au moment où une culture en boîte de Pétri commence à expulser ses spores, nous remplaçons le couvercle soit par le fond d'une seconde boîte dans laquelle on a coulé de la gélose, soit par une plaque de verre recouverte de gélatine. Les spores se fixent alors par groupes de huit à la surface de la gélose ou de la gélatine (Pl. I, F) : selon le temps d'exposition, on obtient des densités variables de tétrades, bien séparées les unes des autres, prêtes pour l'observation. Celle-ci est facile si le nombre de tétrades est de l'ordre de cinq cents à mille par boîte de Pétri. On peut d'ailleurs répéter l'opération plusieurs fois et recueillir ainsi les projections successives. Lorsqu'on ne tient compte que des ascospores bien groupées par huit, ce sont réellement des tétrades dans plus de 99 p. 100 des cas.

L'isolement des ascospores ainsi disposées est extrêmement facile : nous l'effectuons le plus souvent avec une aiguille de verre.

3   Germination des ascospores.

Les ascospores germent par plusieurs pores germinatifs (Pl. I, B) situés le long des sillons, mais la germination n'est satisfaisante qu'après chauffage à 39  -40   C pendant dix à quinze heures. Même dans ces conditions, le substrat nutritif joue un rôle capital ; après de nombreux essais infructueux, nous avons adopté un milieu gélosé ayant la composition suivante :

- Eau de source : 1 000 cm³ ;
- Bacto agar Difco : 12,5 g ;
- Bacto peptone Difco : 12,5 g.

Ce milieu est réparti en boîtes de Pétri et les spores sont disposées à la surface de l'agar, bien séparées les unes des autres pour éviter le mélange de mycéliums, car la croissance, une fois la germination amorcée, est extrêmement rapide. Dans ces conditions et dans la mesure où l'on utilise un milieu frais  chement préparé, on obtient de 50    95 p. 100 de germination selon le croisement utilisé. Chaque spore qui germe fournit une petite culture ou souche.

4   Entretien des souches et réalisation des croisements.

Les mycéliums d'origine monospore obtenus comme nous venons de l'indiquer sont repiqués directement en tubes contenant du mo  t de maïs

gélisé à 2 p. 100. Placés à 25° C, leur croissance s'y poursuit rapidement et, au bout de quatre à six jours, le milieu est entièrement recouvert de filaments.

Ces souches sont alors conservées à basse température (+ 4° C) et repiquées une ou deux fois par an.

Leur signe est déterminé par croisement avec deux souches complémentaires de signes désignés arbitrairement par + et —.

Les croisements peuvent être réalisés sur divers milieux gélisés, mais, sur ces milieux, nous n'avons obtenu que des fructifications peu nombreuses et produisant peu d'asques. Momentanément, nous préférons réaliser les croisements en boîtes de Pétri sur crottin de Cheval stérilisé : quelle que soit la disposition des semis, des apothécies riches en asques s'y forment sur toute la surface du milieu.

Une humidité suffisante et une lumière au moins intermittente sont nécessaires à la fructification. Le nombre d'asques produit et l'étalement de leur projection dans le temps dépendent étroitement de la température. Nous avons opéré entre 18° C et 28° C, qui paraît être une température limite. A 28° C, le cycle est court (dix à treize jours), mais les projections sont faibles : quelques milliers d'asques par culture ; à 18° C, au contraire, le cycle est nettement plus long (une vingtaine de jours), mais chaque culture peut fournir en une quinzaine de jours de trente à quarante mille asques au moins. Nous avons utilisé fréquemment la température moyenne de 23°-24° C, correspondant à un cycle relativement court et à une production d'asques suffisante.

5° Recherche des mutants.

Plusieurs indications (RIZET, 1939 ; BISTIS, 1954) invitaient à rechercher chez un tel organisme des mutants à caractères visibles sur les ascospores. En travail d'équipe, de tels mutants ont été recherchés après action des rayons ultraviolets et des rayons X sur les ascospores. Sur les ascospores sauvages très fortement pigmentées, les rayons ultraviolets sont pratiquement inefficaces et de très fortes doses de rayons X sont indispensables pour conduire à une létalité notable. Cela n'a rien d'extraordinaire, car, si l'on en juge par le nombre de pores germinatifs, la spore mûre contient certainement plusieurs noyaux. Nous avons obtenu cependant sous l'action des rayons X un certain nombre de mutants, mais presque tous, y compris le mutant *B* étudié plus loin, paraissent correspondre à des accidents chromosomiques.

Il est beaucoup plus simple de rechercher des mutants spontanés, en observant des champs de tétrades, issues d'un croisement entre souches sauvages et projetées sur agar. On repère aisément les ségrégations 4 : 4, par exemple quatre spores sauvages noires et quatre spores mutantes incolores. De telles tétrades ne sont pas rares, 1 p. 1 000 environ et fréquemment plus. Les spores anormales sont semées individuellement et

chacune des souches ainsi obtenues est croisée avec une souche sauvage de signe complémentaire. Nous n'avons retenu que les mutants qui, dans de tels croisements, ont conduit à des ségrégations 4 : 4, identiques à celles observées dans l'asque originel ; autrement dit, on n'a isolé que des mutants monogéniques (Pl. I, F).

Du croisement *sauvage* $\times$ *mutant* ainsi réalisé, l'isolement d'une douzaine d'ascospores filles mutantes permet d'obtenir des souches + et — susceptibles d'être utilisées dans les croisements ultérieurs. Cette technique nous a permis d'obtenir, en collaboration avec divers chercheurs du laboratoire, un très grand nombre de mutants d'origine indépendante. Parmi eux, les mutants à spores incolores, seuls étudiés ici, sont actuellement au nombre de plus de 2 000.

Lorsqu'on croise entre eux deux de ces mutants à spores blanches, on constate, le plus souvent, qu'ils sont génétiquement différents. Dans la descendance de ces croisements, on observe, en effet, trois types d'asques : des asques à huit spores blanches (Pl. I, C), des asques à six spores blanches et deux spores sauvages (Pl. I, D) et des asques à quatre spores blanches et quatre spores sauvages (Pl. I, E). *A priori*, l'interprétation de ces résultats est simple : les premiers correspondent à ce qu'on appelle habituellement des *ditypes parentaux* (P), les seconds à des *tétratypes* (T) et les derniers à des *ditypes recombinés* (R). Sous une autre forme, si l'on appelle P_1 et P_2 les deux parents indiscernables morphologiquement, les premiers contiennent quatre spores P_1 et quatre spores P_2 , les seconds deux spores sauvages, deux spores P_1 , deux spores P_2 et deux spores doublement mutantes P_1P_2 , enfin les derniers, quatre spores sauvages et quatre spores P_1P_2 .

Cette interprétation a d'ailleurs été vérifiée à de multiples reprises par l'analyse génétique des divers types d'asques obtenus. Cette analyse, classiquement appelée *analyse de tétrades*, consiste à réaliser des *back-cross* entre chacune des huit souches fournies par un même asque et des souches de génotype parental. On obtient alors soit des descendances uniformément blanches (croisement d'une souche par un parent de même génotype ou d'une souche double-mutante par l'un quelconque des parents), soit des ségrégations 4 : 4 (croisement d'une souche issue de spores noires par l'un des parents), soit une descendance identique à celle du croisement $P_1 \times P_2$.

6° Recherche des rapports entre mutants à spores blanches et groupement de ces mutants en séries.

Lorsqu'on croise deux mutants à spores blanches pris au hasard, on obtient le plus souvent, à côté des tétratypes, des fréquences égales de tétrades parentales (asques 8 : 0) et de tétrades recombinées (asques 4 : 4). On en conclut que les deux couples de gènes impliqués sont indépendants, les *loci* correspondants étant soit éloignés l'un de l'autre sur un même

chromosome, soit localisés sur des chromosomes différents. Si les asques 8 : 0 sont plus nombreux que les asques 4 : 4, il s'agit d'un croisement intéressant deux couples de gènes liés. Lorsque la liaison est étroite, c'est-à-dire lorsqu'il s'agit de *loci* voisins, on constate la rareté ou même l'absence des asques 4 : 4. Ce dernier cas correspond à des distances assez petites pour qu'un seul crossing-over soit possible sur le segment envisagé (fig. 1), et on peut alors évaluer la longueur de ce segment en mesurant

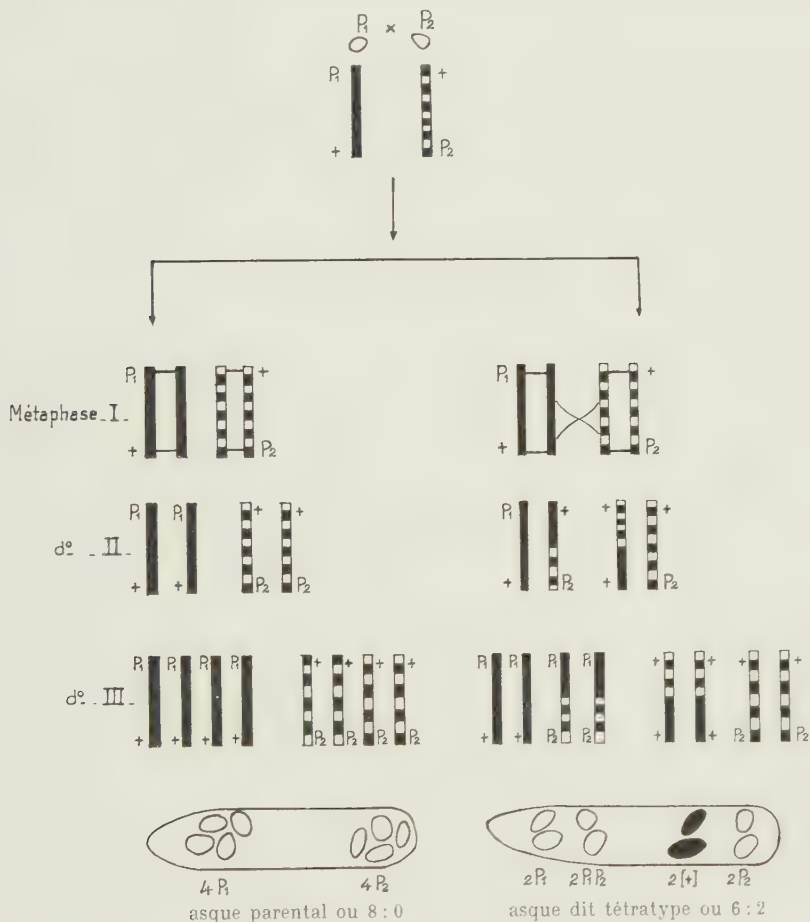


FIG. 1.

la fréquence des asques à six spores blanches et deux spores noires (6 : 2) et en divisant par 2 le résultat obtenu.

Lorsqu'on envisage les relations entre un grand nombre de mutants à spores blanches, un autre phénomène devient évident : c'est l'existence de *séries* de mutants. Ces séries comprennent un nombre très variable de mutants (actuellement de 2 à 131) qui, croisés deux à deux, fournissent

très peu de recombinants sauvages et presque exclusivement sous forme d'asques 6 : 2.

La presque totalité des mutants actuellement connus se groupe dans une trentaine de *séries* au moins (RIZET et coll., 1960) correspondant à autant de *loci* complexes.

Nous nous intéressons ici à la série appelée série 46, et, dans cette série, uniquement aux sites correspondant aux 500 premiers mutants isolés. Il s'agit des mutants spontanés 46, W, 63, 137, 138, 188, 277, et du mutant B obtenu par irradiation aux rayons X.

Pour des raisons que l'on comprendra bientôt, notre étude portera d'abord sur les mutants 46, W, 63, 137, 138 et 188 (*Deuxième partie*, chap. I et II), les deux autres termes 277 et B, à comportement particulier, faisant l'objet de chapitres spéciaux (*Deuxième partie*, chap. III, IV et VI).

DEUXIÈME PARTIE

CHAPITRE PREMIER

ÉTUDE DES MUTANTS 46, W, 63, 137, 138 ET 188. MISE EN ÉVIDENCE D'UNE UNITÉ GÉNÉTIQUE POLARISÉE : LE POLARON

1° Étude des croisements entre les divers mutants.

Il est possible d'obtenir des souches + et — de chacun des mutants en isolant des spores blanches dans la descendance (asques 4 : 4) du croisement entre la souche mutante originelle et une souche sauvage de signe complémentaire. Nous avons donc pu réaliser tous les croisements possibles entre ces mutants pris deux à deux et entre les souches + et — d'un même mutant. Plus de 1 200 000 asques issus de ces croisements ont été observés : ce sont ou des asques à huit spores blanches (8 : 0), de beaucoup les plus nombreux et qu'en première approximation nous considérons comme des ditypes parentaux (P), ou des asques à six spores blanches et deux spores noires qui se présentent comme des tétratypes (T), ou de rarissimes asques à quatre spores noires et quatre spores blanches qui rappellent des ditypes recombinés (R).

Les mutants 137 et 138 se comportent d'une manière identique dans tous les croisements où ils interviennent ; ils ne fournissent jamais de spores sauvages lorsqu'on les croise entre eux. Comme, de plus, ils ont été trouvés dans deux tétrades voisines, il y a tout lieu de penser qu'ils résultent d'un même événement mutationnel : nous grouperons donc les résultats qui les concernent. Le tableau I résume l'ensemble des observations faites.

L'examen de ce tableau appelle les remarques suivantes :

a. Aucune spore sauvage n'apparaît dans la descendance des croisements entre souches + et — d'un même mutant. Ceci reste d'ailleurs vrai pour de nombreux croisements de ce type non mentionnés dans le tableau : tout se passe comme s'il n'y avait pas de mutations réverses, et on peut évidemment se demander si ces mutants ne correspondent pas à de minuscules déficiences.

b. Les tétrades interprétables comme des ditypes recombinés sont

absentes de la plupart des croisements entre mutants différents. Deux seulement ont été relevées (croisements 188×138 et $W \times 137$) (1).

c. Les spores noires se rencontrent presque exclusivement, par *paires*, dans les asques 6 : 2 (six spores blanches, deux spores noires).

TABEAU I.
ÉTUDE ANALYTIQUE DE LA DESCENDANCE DES DIVERS CROISEMENTS DE LA SÉRIE 46.

		188	63	46	W	137 et 138
188	P...	35 000	5 264	4 008	8 047	8 595
	T...	0	4	5	40	81
	R...	0	0	0	0	1
63	P...		280 000	11 278	5 974	2 100
	T...		0	6	17	27
	R...		0	0	0	0
46	P...			190 000	12 021	8 600
	T...			0	9	99
	R...			0	0	0
W	P...				186 000	18 072
	T...				0	150
	R...				0	1
137 et 138	P...					222 000
	T...					0
	R...					0

d. L'ordre dans lequel les mutants sont présentés dans ce tableau n'est pas quelconque : il a été adopté en fonction de la fréquence croissante des asques 6 : 2. Le fait qu'il soit possible d'établir un tableau aussi régulièrement ordonné est, à n'en pas douter, en relation avec la position des sites mutants les uns par rapport aux autres.

Si les asques 6 : 2 contenant les recombinants sauvages résultent bien d'un crossing-over (*Première partie*, fig. 1), les spores noires ne représentent que la moitié des recombinaisons, et chacune des tétrades 6 : 2 doit contenir également deux spores double-mutantes. Dans cette hypothèse, on peut mesurer la distance entre deux sites par la demi-fréquence

(1) L'analyse génétique d'asques analogues relevés dans le croisement $63 \times W$ a montré qu'il s'agissait en fait d'une ségrégation 6 : 2. Les deux ascospores phénotypiquement aberrantes n'avaient d'ailleurs pas le même génotype. La situation est différente pour le mutant 188 (voir chap. VI).

TABLEAU II.

FRÉQUENCES RELATIVES DES RECOMBINANTS SAUVAGES POUR 1 000 TÉTRADES,
CALCULÉES À PARTIR DU TABLEAU I.

	63	46	W	137 et 138
188	0,76 0,29 à 1,98	1,24 0,52 à 2,96	4,97 $\pm 0,78$	9,44 $\pm 1,04$
63	—	0,53 0,27 à 1,14	2,82 $\pm 0,68$	12,85 $\pm 2,47$
46		—	0,74 0,39 à 1,44	11,51 $\pm 1,15$
W			—	8,30 $\pm 0,67$

des asques 6 : 2 dans le croisement correspondant, ce qui revient à dire que, pour comparer ces distances, il suffit de comparer les fréquences des asques 6 : 2 calculées à partir du tableau I. Ces fréquences, évaluées pour 1 000 tétrades, sont groupées dans le tableau II et affectées

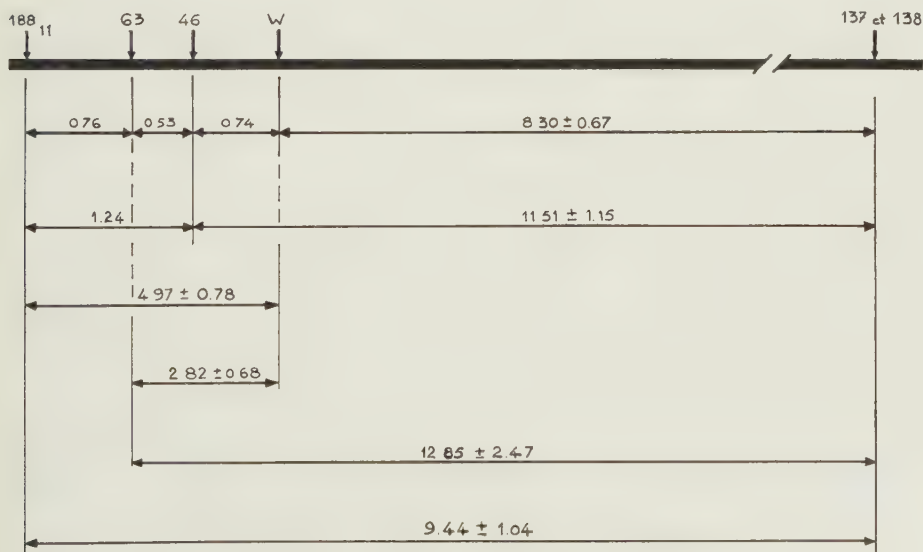


FIG. 2.

de leur erreur type ou accompagnées de leur intervalle de confiance (1).

Sur ce tableau, la comparaison des fréquences correspondant aux croisements possibles entre trois mutants (par exemple, $63 \times W$, 63×46 , $46 \times W$), montre que l'une d'elles n'est pas significativement différente de la somme des deux autres. Cette additivité nous autorise à placer sur une *droite* les divers sites envisagés et à construire la carte schématisée par la figure 2.

Pour obtenir une carte factorielle classique, il suffirait de diviser chacune des distances par 2, dans la mesure toutefois où, selon l'hypothèse faite plus haut, les asques 6 : 2 résultent d'un crossing-over. Mais en est-il ainsi ?

2° Analyse génétique des asques 6 : 2 et mise en évidence du polaron.

La réponse à cette question nous a été apportée par l'analyse génétique de cent trente de ces asques prélevés dans l'ensemble des croisements réalisés entre mutants différents. L'étude des back-cross entre chacune des huit souches fournies par l'asque et chacun des parents P_1 et P_2 aboutit, pour chaque tétrade, à un tableau analogue au tableau III, établi pour un asque issu du croisement 46×138 .

Ce tableau montre que les deux souches issues de spores noires sont de même signe et qu'elles conduisent, lorsqu'on les croise avec des souches de génotype parental, à des ségrégations 4 : 4. Les deux spores noires sont

TABLEAU III.

PHÉNOTYPE.		SPORES BLANCHES.						SPORES NOIRES.	
Nos et signes .		1 —	2 —	3 +	4 +	5 —	6 —	$n_1 +$	$n_2 +$
Résultats avec 138 (P_1)	Asques $\left\{ \begin{array}{l} 8 : 0 \\ 6 : 2 \\ 4 : 4 \end{array} \right.$	280 4 0	150 3 0	600 7 0	300 5 0	930 0 0	700 0 0	Ditypes paren- taux - asques 4 : 4.	
Résultats avec 46 (P_2)	Asques $\left\{ \begin{array}{l} 8 : 0 \\ 6 : 2 \\ 4 : 4 \end{array} \right.$	800 0 0	985 0 0	950 0 0	900 0 0	650 6 0	520 5 0		

(1) En effet, si, pour des nombres d'asques 6 : 2 assez importants, on peut utiliser la loi normale pour le calcul de l'écart type, il n'en est pas de même pour des nombres trop petits. Dans ce cas, il n'y a plus symétrie et on doit calculer directement les limites de l'intervalle de confiance

qui seront données par la formule : $L = \frac{2 + u \pm 2 \sqrt{1 + u}}{N}$ où u représente le nombre de tétrades 6 : 2 et N le nombre d'asques de l'échantillon. Ces résultats concordent d'une manière satisfaisante avec les limites exactes de confiance de la loi binomiale.

donc réellement sauvages et constituent l'un des quatre produits de la méiose.

Les souches issues des spores 5 et 6, toutes deux de signe —, croisées avec une souche 46, fournissent des asques 6 : 2. alors qu'elles n'en fournissent pas lorsqu'on les croise avec 138 : elles représentent un autre produit de la méiose, identique au parent 138. Les souches 1, 2, 3 et 4, qui correspondent aux deux autres produits de la méiose, ne fournissent des asques 6 : 2 que lorsqu'on les croise avec 138 : ces quatre souches sont donc de génotype 46.

Ainsi, des quatre produits de la méiose : *un* est un recombinant sauvage, *un* est identique à l'un des parents (parent dit *minoritaire*) et *deux* sont identiques à l'autre parent, dit *majoritaire*. Il n'y a pas, dans la tétrade, de produit double-mutant, c'est-à-dire de recombinants réciproques. Par ailleurs, les deux spores appartenant au même « produit » de la méiose sont toujours génétiquement identiques.

Cette structure génétique, telle que nous venons de la définir, se retrouve dans chacun des asques analysés ; il n'y a aucune exception.

Cette étude nous montre également que tous les asques 6 : 2 issus d'un même croisement ont la même composition génétique, c'est-à-dire que le *parent majoritaire est toujours le même*. Ceci nous permet de grouper très simplement l'ensemble des résultats :

TABLEAU IV.
STRUCTURE GÉNÉTIQUE DE L'ENSEMBLE DES ASQUES 6 : 2 ANALYSÉS.

CROISEMENTS.	SÉGRÉ- GATION.	NOMBRE D'ASQUES ANALYSÉS.	CROSSING- OVER.	PARENT :		NATURE DES SPORES NOIRES.
				Majori- taire.	Minori- taire.	
188 × 63	6 : 2	8	0	188	63	Sauvages.
188 × 46	6 : 2	2	0	188	46	Sauvages.
188 × W	6 : 2	10	0	188	W	Sauvages.
188 × 138	6 : 2	11	0	188	138	Sauvages.
63 × 46	6 : 2	2	0	63	46	Sauvages.
63 × W	6 : 2	18	0	63	W	Sauvages.
63 × 138	6 : 2	35	0	63	138	Sauvages.
46 × W	6 : 2	7	0	46	W	Sauvages.
46 × 138	6 : 2	22	0	46	138	Sauvages.
W × 137	6 : 2	15	0	W	137	Sauvages.

Il est manifeste, dans ce tableau, qu'un même mutant, 46 par exemple, peut être majoritaire ($46 \times W$; 46×138) ou minoritaire (188×46 ; 63×46)

selon les croisements. Cette constatation devient réellement intéressante si l'on compare le tableau IV et la carte des sites (fig. 2), car on est amené à formuler une règle très simple : dans un croisement, *le parent majoritaire est celui qui occupe le site de gauche sur la carte.*

Il devient possible de rendre compte de l'ensemble des observations : les mutants 188, 63, 46, W, 137 et 138 correspondent à des sites très voisins sur le même chromosome et les mutations apparues à ces sites conduisent au même phénotype. Ces sites sont disposés linéairement sur un segment chromosomique. A l'intérieur de ce segment, des recombinaisons peuvent se produire au cours de la méiose, mais elles ne sont jamais d'origine crossing-over, puisqu'un même événement ne produit jamais de recombinant réciproque.

Enfin, la règle qui permet de prévoir le parent majoritaire dans un croisement donné impose que ce segment soit polarisé.

Il est clair maintenant que ce segment linéairement structuré, polarisé, ne subissant que des échanges non réciproques, représente une unité bien définie ne se superposant à aucune de celles dont l'étude a conduit aux diverses définitions du gène. Nous en discuterons ultérieurement l'intérêt, mais, dès maintenant, pour faciliter l'exposé, nous la désignerons par le terme de *polaron* qui traduit son caractère essentiel : la polarité.

3° Recherche des recombinants double-mutants.

Même si, au sein du polaron, il ne se forme qu'un seul type de recombinants par tétrade, cela ne signifie pas nécessairement que tous les recombinants soient sauvages, car les asques avec recombinants double-mutants ne sont pas immédiatement décelables. Ils ne se distinguent probablement en rien des asques parentaux à huit spores blanches.

L'apparition d'asques avec recombinants double-mutants doit être en effet une conséquence du mécanisme auquel on est amené à faire appel pour expliquer la formation des asques 6 : 2. Ce mécanisme est celui du changement de modèle (*copy-choice*) au cours de la replication du matériel génétique (LEDERBERG, 1955 ; LEVINthal, 1954, 1956 ; GLASS, 1957).

Cette interprétation est schématisée par la figure 3. L'image A de cette figure correspond à la situation normale. Dans le cas de l'image B, le site 137⁺ a été copié deux fois lors de la replication, alors que son allèle mutant ne l'a pas été. Nous obtenons ainsi un asque 6 : 2. Inversement, il n'y a aucune raison apparente de supposer que le site mutant ne puisse être à son tour copié deux fois dans certaines tétrades ; ce qui conduirait à des asques 8 : 0 contenant deux spores double-mutantes (fig. 3, C). Ces deux situations symétriques rappellent dans leurs conséquences celles décrites par de nombreux auteurs sous le terme de « conversion génique » (LINDERGREN, 1953 ; MITCHELL, 1955 ; ROMAN, 1956). Par analogie, nous parlerons d'asques de type conversion.

Précisons que d'autres types d'asques 8 : 0, non parentaux, et condui-

sant ou non à des spores double-mutantes sont possibles ; il suffit, pour s'en rendre compte, d'imaginer des changements de modèle se situant avant le site 63.

Dans le but de mettre en évidence ces différents types de ségrégation, et en particulier celles conduisant à des asques avec recombinants double-

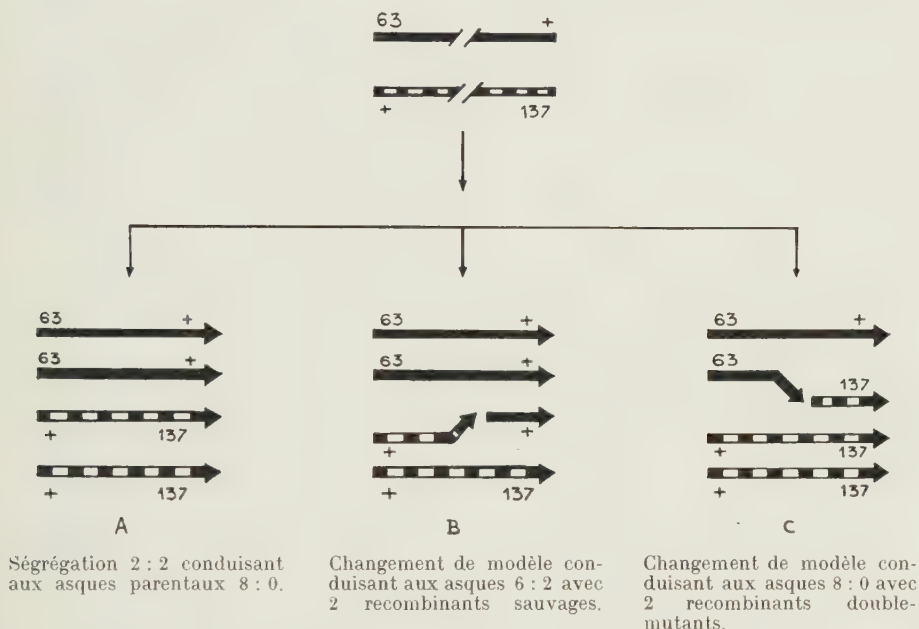


FIG. 3. — Recombinaisons à partir d'un hétérozygote pour deux couples de sites distincts (63 et 137) dans l'hypothèse du copy-choice.

mutants comme ceux décrits par ROMAN (1958), nous avons fait l'analyse génétique de plus de deux cents asques à huit spores blanches prélevés au hasard dans le croisement 63×137 . Les expériences ont été réalisées à 25° C.

Aucune ségrégation aberrante n'a été observée ; aucun de ces asques ne contenait de spores double-mutantes : tous étaient de type parental avec quatre spores 63 et quatre spores 138.

Malgré le travail matériel énorme qu'a exigé cette analyse, ce résultat ne prouve pas l'absence de tétrades avec recombinants double-mutants. En effet, même si de telles tétrades existaient dans la population avec la même fréquence que les asques 6 : 2, de l'ordre de 1 p. 100 pour l'exemple choisi, il faudrait analyser au moins trois cents asques 8 : 0 pour avoir la quasi-certitude d'en trouver un. Il ne nous a pas été possible, matériellement, d'aller aussi loin. Aussi, avons-nous tenté de résoudre le problème d'une autre manière. Sa solution fait l'objet du prochain chapitre.

CHAPITRE II

ANALYSE DES CROISEMENTS ENTRE DIVERS MUTANTS DU POLARON ET UNE MÊME SOUCHE SAUVAGE : S

1^o Buts de l'expérience.

Les difficultés rencontrées pour déceler directement des recombinants double-mutants dans la descendance d'hétérozygotes pour deux sites distincts ne nous ont pas permis jusqu'ici de les détecter. Mais une autre voie demeure ouverte pour démontrer leur existence.

Reprenons (fig. 3 bis) les schémas B et C de la figure 3. Les deux types de tétrades qu'ils représentent conduiraient respectivement, après la

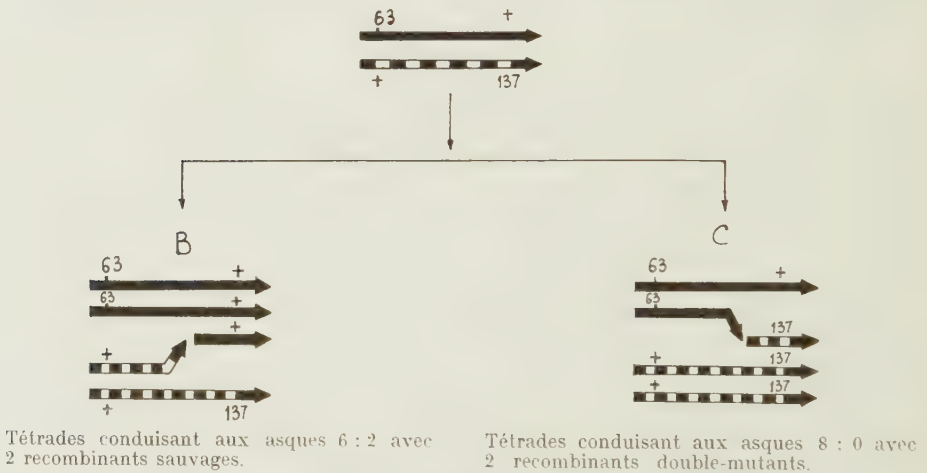


FIG. 3 bis.

troisième division, à un asque 6 : 2 avec deux recombinants sauvages et à un asque 8 : 0 avec deux recombinants double-mutants. Le couple formé par 63 et son allèle sauvage subit une ségrégation mendélienne 2 : 2, tandis que le second couple, 137 et son allèle sauvage, subit soit une ségrégation 1 : 3 (image B), soit une ségrégation 3 : 1 (image C).

Il est visible, sur cette figure, que les deux ségrégations symétriques 1 : 3 et 3 : 1, pour 137 et son allèle sauvage, seraient aisément décelables en l'absence du marqueur 63, dont la présence ici ne change rien formellement au phénomène. En effet, les tétrades correspondantes conduiraient

à des asques à deux spores blanches et six spores noires (asques 2 : 6) et des asques à six spores blanches et deux spores noires (asques 6 : 2). Ces deux catégories d'asques sont l'une et l'autre immédiatement reconnaissables.

Posé sous cette forme, le problème peut être résolu en cherchant les ségrégations 2 : 6 et 6 : 2 dans les croisements entre 137 et la souche sauvage, ou, d'une manière plus générale, entre divers mutants du polaron et la souche sauvage. Dans ce dernier cas, nous pouvons nous attendre à rencontrer des fréquences d'asques 6 : 2 et 2 : 6 (s'ils existent) variables selon la position du site sur le polaron.

Nous traiterons successivement ces deux points : existence des ségrégations 3 : 1 et 1 : 3, fréquence des asques de ces deux types pour les différents sites mutants du polaron.

2° Existence de ségrégations 3 : 1 et 1 : 3 dans les croisements 137 × sauvage.

Lorsqu'on examine la descendance d'un croisement entre une souche sauvage et l'un des mutants du polaron, on observe, dans l'énorme majorité des cas, des ségrégations 4 : 4 typiques. Toutefois, si l'observation porte sur un très grand nombre de tétrades, on note quelques ségrégations aberrantes : quelques asques 5 : 3 ou 3 : 5; de très rares asques 1 : 7 (une spore blanche et sept spores noires); enfin des asques 6 : 2 et 2 : 6, dont l'existence était théoriquement prévue.

La diversité de ces anomalies, le caractère impair de certaines ségrégations rendent nécessaire leur analyse génétique pour faire la part du génotype et du phénotype. En effet, la pigmentation est fréquemment faible ou absente dans les asques jeunes, et, dans les vieilles cultures, le pigment se répartit bien souvent d'une manière anarchique.

Nous avons donc prélevé tous les asques à ségrégations aberrantes du croisement 137 × sauvage. Quarante et un ont été complètement analysés : les huit souches issues de chacun d'eux étant croisées avec les deux souches de génotype parental (back-cross), et la descendance observée. Les résultats de cette analyse peuvent se répartir en trois groupes :

a. Pour un certain nombre d'asques, l'anomalie était de nature phénotypique. La totalité des asques 5 : 3 et 3 : 5 analysés, l'unique asque 1 : 7 et un tiers environ des asques 2 : 6 correspondaient en effet à des ségrégations monofactorielles banales 4 : 4. Leur phénotype était vraisemblablement lié à des anomalies dans la distribution du pigment sans relation avec le génotype.

b. Pour d'autres asques, les ségrégations phénotypiquement aberrantes résultent non pas de l'événement prévu, mais de mutations spontanées nouvelles, ne relevant pas de la série 46, et conduisant également à des spores blanches. Ce mécanisme, qui touche environ le tiers des asques 6 : 2,

n'a pu évidemment être décelé que chez ces derniers. Sa mise en évidence est très facile, comme le montre le tableau V, relatif à l'analyse génétique d'un asque 6 : 2 du croisement *sauvage* $\times$ 137 :

TABLEAU V.

ANALYSE GÉNÉTIQUE D'UN ASQUE 6 : 2, ISSU DU CROISEMENT $S \times 137$, ET TRADUISANT L'APPARITION D'UN NOUVEAU MUTANT.

PHÉNOTYPE.		SPORES BLANCHES.						SPORES NOIRES.	
N ^{os} et signes..		1 +	2 —	3 —	4 +	5 —	6 —	$n_1 +$	$n_2 +$
Résultats avec avec 137 ...	Asques $\left\{ \begin{array}{l} 8 : 0 \\ 6 : 2 \\ 4 : 4 \end{array} \right.$	35 185 40	2 020 0 0	989 0 0	21 103 16	4 080 0 0	3 200 0 0	Ditypes paren- taux - asques 4 : 4.	
Résultats avec S		4 : 4	4 : 4	4 : 4	4 : 4	4 : 4	4 : 4	0 : 8	0 : 8

De ce tableau, on peut déduire les conclusions suivantes :

— Les souches issues de spores noires, croisées avec une souche sauvage, ne fournissent que des spores noires ; croisées avec 137, elles fournissent des ségrégations normales 4 : 4. Il s'agit donc de spores sauvages.

— Les souches issues de spores blanches sont toutes effectivement mutantes. Deux d'entre elles, b_1 et b_4 , résultent d'une nouvelle mutation que nous désignerons par m . En effet, les souches b_1 et b_4 croisées avec 137 conduisent à des tétrades 8 : 0 et 4 : 4 (parentales et recombinées) montrant que m est indépendant de 137. Les souches b_5 et b_6 croisées soit avec 137, soit avec b_1 et b_4 ne donnent aucun recombinant sauvage : il s'agit donc de double-mutants qui portent à la fois les caractères 137 et m . Enfin, il est clair que les souches b_2 et b_3 ont le génotype de 137.

En conclusion, un tel asque 6 : 2 comporte deux spores sauvages et, parmi les six spores blanches, deux portent une nouvelle mutation, deux sont identiques au parent utilisé, deux enfin sont double-mutantes. La fréquence assez élevée des mutations spontanées permettait de prévoir l'existence de ce phénomène.

c. Tous les autres asques 6 : 2 et 2 : 6 correspondent aux ségrégations 3 : 1 et 1 : 3 dont l'existence a été théoriquement prévue. Pour l'une, le mutant (ici 137) est représenté six fois dans l'asque : son site a été copié deux fois, alors que son allèle *sauvage* ne l'a pas été ; pour l'autre, la situation est inverse mais symétrique. Les résultats de l'analyse des tétrades présentant ces ségrégations sont résumés respectivement dans les tableaux VI et VII.

Par souci de clarté, nous n'avons porté dans le tableau VI que le génotype des spores. Les six souches issues des spores blanches croisées avec le

TABLEAU VI.

ANALYSE D'UN ASQUE 6 : 2 ISSU DU CROISEMENT 137 × SAUVAGE ET RÉSULTANT D'UNE CONVERSION.

PHÉNOTYPE.	SPORES BLANCHES.						SPORES NOIRES.	
N ^{os} et signes..	1 —	2 —	3 +	4 —	5 +	6 —	$n_1 +$	$n_2 +$
Résultats avec 137	137	137	137	137	137	137	4 : 4	4 : 4
Résultats avec S	4 : 4	4 : 4	4 : 4	4 : 4	4 : 4	4 : 4	S	S

parent 137 n'ont fourni aucun recombinant sauvage dans leur descendance : elles sont donc identiques à ce parent. L'étude génétique des souches issues de spores noires indique que ces spores sont réellement sauvages (S).

On déduit facilement, à la lecture du tableau VII, que l'asque analysé contenait deux spores de génotype 137 et six spores sauvages.

TABLEAU VII.

ANALYSE D'UN ASQUE 2 : 6, DE TYPE CONVERSION, ISSU DU CROISEMENT S × 137.

PHÉNOTYPE.	SPORES BLANCHES.		SPORES NOIRES.					
N ^{os} et signes..	1 +	2 +	$n_1 +$	$n_2 -$	$n_3 +$	$n_4 -$	$n_5 -$	$n_6 -$
Résultats avec 137	137	137	4 : 4	4 : 4	4 : 4	4 : 4	4 : 4	4 : 4
Résultats avec S	4 : 4	4 : 4	S	S	S	S	S	S

Le tableau VIII résume les résultats concernant les quarante et un asques à ségrégation aberrante.

Les deux ségrégations symétriques 3 : 1 et 1 : 3 (tableau VIII, colonne 2), qui relèvent du mécanisme de type conversion, ne sont pas une particularité du mutant 137 : elles ont été trouvées également dans les croisements des mutants W, 63 et 188 de la même série avec la forme *sauvage*. Mais ces asques de type conversion ne représentent qu'une fraction (la

TABLEAU VIII.

ANALYSE GÉNÉTIQUE DES ASQUES A SÉGRÉGATION ANORMALE, ISSUS DU CROISEMENT 137 × SAUVAGE.

SÉGRÉ- GATION.	NOMBRE TOTAL D'ASQUES ANALYSÉS.	NOMBRE D'ASQUES DE TYPE CONVERSION.	NOMBRE D'ASQUES RÉSULTANT D'UNE MUTATION.	ASQUES GÉNOTYPI- QUEMENT 4 : 4.	PROPOR- TIONS D'ASQUES DE TYPE CONVERSION.
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
6 : 2	23	15	7	1	2/3
2 : 6	11	7	—	4	2/3
5 : 3 et 1 : 7	7	0	—	7	0

plus importante) des asques 6 : 2 et 2 : 6, qui comprennent également des asques résultant d'une mutation nouvelle (colonne 3) ou des asques génotypiquement 4 : 4 (colonne 4). Toutes les autres ségrégations aberrantes (5 : 3 et 1 : 7) se sont révélées phénotypiques.

Un fait nouveau et intéressant apparaît à la lecture de la colonne 5 : les proportions d'asques 6 : 2 et 2 : 6 d'origine conversion, parmi les asques aberrants étudiés, semblent être égales. S'il en était ainsi, nous pourrions nous dispenser d'une analyse génétique et utiliser directement les fréquences « brutes » des asques 6 : 2 et 2 : 6 pour comparer les fréquences des deux sortes d'asques de type conversion issus des croisements entre les divers mutants du polaron et la forme *sauvage*.

**3^o Fréquence des asques 6 : 2 et 2 : 6
en fonction de la position des sites sur le polaron.**

Les divers croisements nécessaires pour obtenir cette information ont été réalisés à la température de 25°, et chacun d'eux a été répété deux fois. A maturité, c'est-à-dire dès que les premiers asques commençaient à être expulsés, nous avons procédé à leur récolte, comme il a été exposé précédemment.

Pour un croisement donné, les récoltes successives jusqu'à épuisement des cultures ont été analysées par dénombrement des asques 6 : 2, 2 : 6 et 4 : 4. Nous avons systématiquement groupé les récoltes par intervalle de vingt-quatre heures. Le choix tout à fait arbitraire d'une « unité d'observation » permettait d'exprimer en fonction du temps pour chaque répétition les fréquences relatives des asques 6 : 2 et 2 : 6. Pour les divers

TABLEAU IX.

RÉSULTATS « BRUTS » RELATIFS AUX ASQUES 6 : 2 ET 2 : 6 ISSUS DES CROISEMENTS ENTRE LA FORME SAUVAGE S ET LES MUTANTS 63, 46, W ET 137.

	S × 63			S × 46			S × W			S × 137		
	P	6 : 2	2 : 6	P	6 : 2	2 : 6	P	6 : 2	2 : 6	P	6 : 2	2 : 6
1 ^{er} jour	752	5	0	9	0	0	17	0	0	269	8	0
2 ^e —	7 190	24	3	510	3	1	730	11	2	3 044	30	9
3 ^e —	4 257	30	6	1 106	7	1	1 730	10	4	3 940	19	7
4 ^e —	7 004	25	13	1 220	7	0	1 710	4	5	3 045	25	20
5 ^e —	7 000	26	71	970	2	4	1 443	3	7	3 190	33	31
6 ^e —	4 942	24	50	588	5	1	692	2	8	953	16	21
7 ^e —	3 190	16	29	404	1	2	190	1	0	1 240	15	21
8 ^e et 9 ^e jours	2 090	17	6	417	1	1	140	1	0	1 471	16	16
Totaux	36 425	167	178	5 224	26	10	6 652	32	26	17 152	162	125
Fréquence moyenne pour 1 000 tétrades		4,54 ± 0,35	4,82 ± 0,36		4,94 ± 0,95	1,90 ± 0,60		4,76 ± 0,84	3,87 ± 0,76		9,28 ± 0,72	7,16 ± 0,63

croisements, la fusion des deux répétitions n'a été réalisée qu'à la suite d'une étude complémentaire (test d'homogénéité).

Le tableau IX présente pour chaque croisement et pour chaque jour de récolte le nombre de tétrades à ségrégation monofactorielle normale ou tétrades parentales (P), le nombre des asques 6 : 2 et celui des asques 2 : 6. A chaque date correspond donc un échantillon de la population totale. Au bas de ce tableau figurent les fréquences moyennes des asques 6 : 2 et 2 : 6 accompagnées de leur erreur type.

Pour un croisement donné, ces fréquences ne diffèrent pas significativement. Peut-on conclure à l'équiprobabilité des deux ségrégations symétriques, ou s'agit-il d'un hasard ? On remarque que les deux types d'asques sont recueillis dans des proportions très différentes au cours de

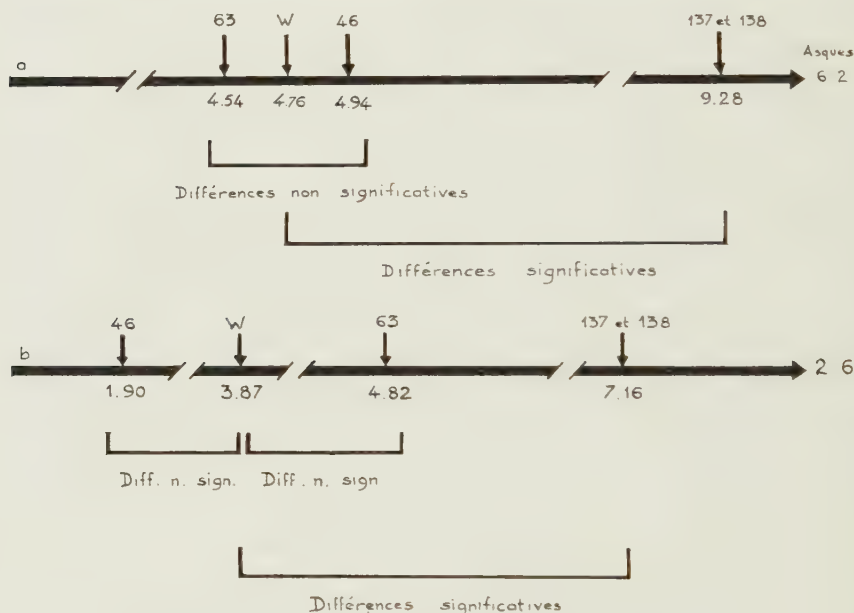


FIG. 4.

l'expérience. Les asques 2 : 6 deviennent plus fréquents à mesure que la culture vieillit (1). Si cela est dû exclusivement à un dépôt anormal du pigment sans rapport avec le génotype, les fréquences vraies de conversion vers le type sauvage sont surestimées. Mais les fréquences des asques

(1) Dans le tableau IX, les échantillons journaliers ne sont pas indépendants, ce qui exclut l'étude, par les méthodes classiques, de l'analyse de la variance. Il a toutefois été possible de déceler, grâce au test de la médiane (EISONHART et SWED, 1943) et avec une probabilité faible, mais suffisante (11 p. 100), que les asques 6 : 2 avaient tendance à augmenter de fréquence peu après le début de la récolte, et les asques 2 : 6 vers la fin de la récolte. On mettrait facilement en évidence qu'à une date déterminée la fréquence des asques 6 : 2 est significativement différente de celle des asques 2 : 6.

6 : 2 sont peut-être aussi surestimées à cause des mécanismes « parasites » tels que : mutations spontanées nouvelles, asques immatures, répartition inégale du pigment.

Pour l'ensemble des croisements, la comparaison des fréquences des asques 6 : 2 est plus révélatrice. Qu'elle soit faite par le calcul des écarts réduits ou des intervalles de confiance ou globalement au moyen de tests d'homogénéité, cette comparaison conduit au même résultat. Les fréquences sont distribuées en deux groupes significativement distincts : on retrouve, dans l'un, les fréquences correspondant aux sites 63, 46 et *W*, et dont les différences ne sont pas significatives, et, dans l'autre, les fréquences relatives au site 137. La même conclusion se dégage de l'étude des fréquences des asques 2 : 6. Ces faits sont schématisés par la figure 4.

Si l'on rapproche la figure 4 de la carte des sites du polaron (fig. 2), l'analogie est frappante. Dans les deux cas, on trouve les sites 63, 46 et *W* très voisins les uns des autres à un pôle et, au pôle opposé, le site 137.

Si cette analogie est fondée, et si l'on admet que la replication s'initie toujours à partir de la même extrémité du polaron, on doit s'attendre à trouver, dans la descendance d'un double hétérozygote (63×137 , par exemple), une fréquence d'asques avec recombinants sauvages égale à la différence des fréquences des asques 2 : 6 issus des croisements $137 \times \text{sauvage}$ et $63 \times \text{sauvage}$. En fait, un autre phénomène intervient.

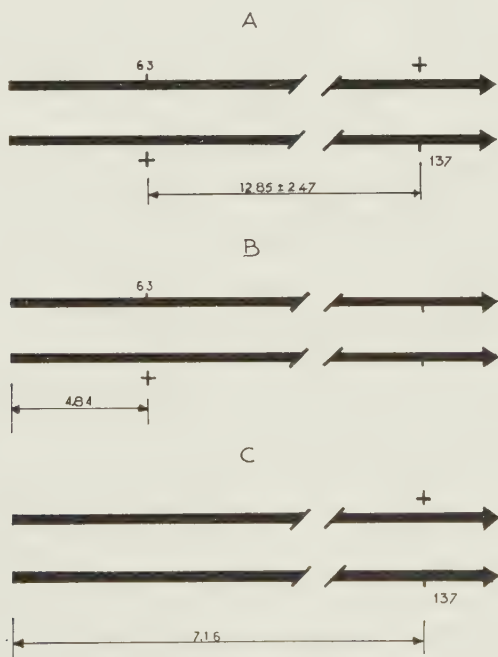


FIG. 5.

4° Rapport entre l'état hétérozygote et les fréquences de conversion.

Si, sur le polaron envisagé, la replication débute à l'extrémité proche du site 63, la distance 63-137 devrait pouvoir être évaluée de deux manières : directement, par la fréquence des asques 6 : 2 issus du croisement 63×137 et, indirectement, par la différence des fréquences des asques 2 : 6 (homologues des précédents) fournis par les croisements $137 \times S$ et $63 \times S$.

La figure 5 groupe les résultats obtenus pour chacun de ces trois croisements. Par l'observation directe, la distance 63-137 est égale à $12,85 \pm 2,47$ (fig. 5, A). Par la méthode indirecte, on ne trouve plus que $2,34 \pm 0,65$ ($7,16 - 4,82$), soit une distance beaucoup plus faible que la précédente (fig. 5, B et C). Tout paraît donc se passer comme si l'état double hétérozygote favorisait un accroissement des conversions.

5° Conclusion.

Les faits décrits dans ce chapitre apportent trois résultats essentiels :

1° Comme il avait été théoriquement prévu, les asques 6 : 2 et 2 : 6 résultant de conversion existent. L'existence de ces deux types d'asques indique que la conversion peut intéresser le site mutant, ou son allèle sauvage, selon les tétrades. On peut donc logiquement prévoir l'existence certaine de recombinants double-mutants dans la descendance des doubles hétérozygotes.

2° Les fréquences moyennes d'asques 6 : 2 ou 2 : 6 dépendent de la position des sites envisagés sur le polaron. Elles sont du même ordre de grandeur pour les croisements intéressant des sites voisins (63, W et 46) et plus élevées dans les croisements avec le site mutant 137, plus éloigné de l'origine de la replication.

3° Dans une région donnée, la fréquence des conversions paraît dépendre non seulement de la position, mais également du nombre de sites mutants impliqués dans un croisement. Cet accroissement de la fréquence des recombinaisons avec le degré d'hétérozygotie conduit tout naturellement à la notion d'*interférence négative* qui fera l'objet du chapitre IV.

CHAPITRE III

PROBLÈMES POSÉS

PAR L'EXISTENCE D'UN SITE EXTÉRIEUR AU POLARON

La découverte dans la série 46 du site nouveau 277 a posé presque immédiatement des problèmes particuliers. En effet, les asques 6 : 2 issus des croisements entre 277 et certains mutants de la série sont de deux types : les uns résultent bien d'une conversion, mais d'autres proviennent d'un crossing-over. Les croisements intéressant 277 produisent également de rares asques 4 : 4 et un nombre non négligeable d'asques 7 : 1. Toutes ces particularités nous ont incité à faire l'analyse génétique des divers types de tétrades contenant des recombinants sauvages.

1° Localisation du site 277.

Le mutant 277 a été croisé avec les mutants correspondant aux divers sites du polaron : 188, 63, 46, W, 137 et 138. L'examen de la descendance a permis, comme précédemment (tableau I), de mesurer les distances entre deux sites par la fréquence des asques 6 : 2 qui contiennent la presque totalité des spores noires. Les valeurs de ces fréquences, calculées pour 1 000 tétrades et affectées de leur écart type ou accompagnées de leur intervalle de confiance, figurent dans le tableau X.

TABLEAU X.

RÉSULTAT DES CROISEMENTS ENTRE 277 ET LES AUTRES MUTANTS DE LA SÉRIE 46.

277 ×	188	63	46	W	137 et 138	277	
Asques {	8 : 0	1 210	15 906	6 394	4 809	8 747	72 000
	6 : 2	9	234	65	48	7	0
	4 : 4	0	1	0	0	0	0
Fréquence des asques 6 : 2 pour 1 000 tétrades ...	7,50 ± 2,47	14,50 ± 0,96	10,06 ± 1,25	9,88 ± 1,43	0,80 0,40 à 1,67	—	

Aux erreurs d'échantillonnage près, on vérifie facilement que la règle d'additivité des fréquences est approximativement respectée, sauf pour le mutant 188 dont le comportement aberrant sera étudié plus loin (chap. VI). Il est donc facile de dresser une carte linéaire des sites (fig. 6) sur laquelle nous avons porté certains résultats déjà connus (fig. 2). On voit sur cette figure que le site 277 se situe à droite de 137-138, et très près de celui-ci.

Momentanément, rien ne s'oppose donc à l'idée que 277 est un nouvel

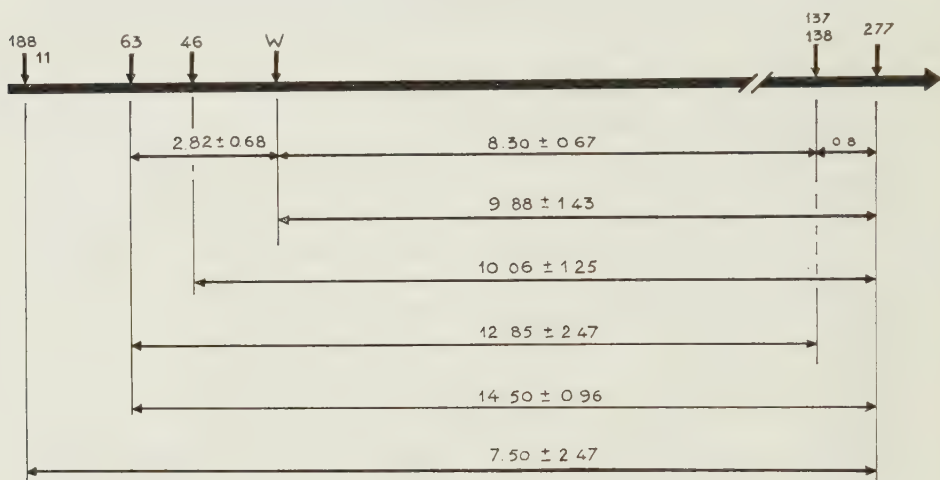


FIG. 6. — Position du mutant 277.

élément du polaron. Mais ceci demande à être contrôlé par l'analyse des asques contenant les recombinants sauvages.

L'analyse de vingt-neuf asques 6 : 2 issus de divers croisements entre le mutant 277 et les autres mutants de la série, conduite selon la méthode décrite plus haut, a permis de mettre en évidence non plus un seul, mais deux types de structures génétiques.

Dans vingt-trois de ces asques, nous avons retrouvé la composition qui nous est déjà familière (chap. II) : deux spores sauvages, deux spores identiques à l'un des parents (minoritaire), quatre spores identiques à l'autre parent (majoritaire). Le parent 277 est toujours minoritaire (tableau XIII) dans les asques issus des croisements : 63×277 , 46×277 et $W \times 277$. Cette partie de l'analyse tendrait à confirmer l'appartenance du site 277 au polaron.

Dans chacun des six autres asques 6 : 2, nous avons trouvé deux spores sauvages, deux spores de génotype 277, deux spores du génotype de l'autre parent et deux spores double-mutantes. Ces tétrades se présentent donc comme des tétratypiques classiques contenant les deux types de recombinants réciproques et résultant d'un crossing-over. La répartition de ces asques est indiquée dans le tableau XIII. Quelle que soit la rareté de ces asques, leur seule existence interdit de localiser le site 277 sur le polaron

tel que nous l'avons défini. La proximité des sites 277 et 137-138 n'atténue en rien cette conclusion.

2° Analyse génétique des asques 7 : 1.

Ces asques ont été obtenus dans la plupart des croisements entre 277 et les autres mutants de la série 46. Nous ne les avons pas décelés dans les croisements 138 × 277, mais cela est probablement dû à leur très faible fréquence, conséquence de la proximité de ces sites.

Le tableau XI, qui fait état de résultats partiels, nous donne une idée de la fréquence de ces asques 7 : 1 par rapport aux asques 6 : 2 ou 4 : 4. Ici, comme dans le cas de la série 19 (RIZET, LISSOUBA et MOUSSEAU, 1961), elle est faible, mais non négligeable, et il ne semble pas y avoir de rapport entre les fréquences des asques 6 : 2 et celles des asques 7 : 1.

TABLEAU XI.

FRÉQUENCES COMPARÉES DES ASQUES 6 : 2 ET 7 : 1 CALCULÉES À PARTIR D'UN MÊME ÉCHANTILLON POUR DIVERS CROISEMENTS.

CROISEMENTS.	ASQUES.	SÉGRÉGATIONS.		
	8 : 0	6 : 2	7 : 1	4 : 4
63 × 277 Fréquence pour 1 000 tétrades.	11 395	177 15,24 ± 1,14	38 3,27 ± 0,53	1 0,08
46 × 277 Fréquence pour 1 000 tétrades.	4 088	48 11,54 ± 1,66	24 5,77 ± 1,17	0
W × 277 Fréquence pour 1 000 tétrades.	2 234	27 11,91 ± 2,29	6 2,64 ± 1,08	0

Quel que soit le croisement dont ils sont issus, les quatorze asques 7 : 1 analysés présentent tous la même composition : la spore noire est sauvage ; trois des sept spores blanches ont le génotype 277 (le couple 277 et son allèle sauvage ségrègent donc suivant le rapport 3 : 5) ; les quatre autres spores blanches ont le génotype du deuxième parent.

La structure génétique de ces asques est donc parfaitement définie et en tout point superposable à celle rencontrée lors de l'étude de la série 19 dans laquelle le rôle de 277 est tenu par le mutant 60 (*loc. cit.*).

L'« impureté » d'un des produits de la méiose, signalée par d'autres

auteurs (OLIVE, 1959), liée chez *Ascobolus*, dans les deux cas connus, aux propriétés de l'un des parents, est un fait qu'il nous faudra tenter d'interpréter.

3^o Analyse génétique d'un asque 4 : 4.

La rareté des asques 4 : 4 ressort de la lecture du tableau X. Malgré l'ampleur de nos investigations, nous n'en avons trouvé que deux (dans la descendance du croisement 277 × 63). Un seul a pu être complètement analysé et le résultat de cette analyse est rapporté dans le tableau XII.

Les souches n_1 , n_2 , n_3 et n_4 , issues des quatre spores noires, conduisent

TABLEAU XII.
ANALYSE GÉNÉTIQUE D'UN ASQUE 4 : 4 ISSU DU CROISEMENT 277 × 63.

PHÉNOTYPE.	SPORES NOIRES.				SPORES BLANCHES.					
Souches	n_1	n_2	n_3	n_4		b_1	b_2	b_3	b_4	
Signes	+	+	—	—		+	+	—	—	
Résultats avec le parent 63	4 : 4	4 : 4	4 : 4	4 : 4	Asques	8 : 0 6 : 2 4 : 4	6 520 0 0	3 850 0 0	3 000 0 0	4 105 0 0
Résultats avec le parent 277	4 : 4	4 : 4	4 : 4	4 : 4	Asques	8 : 0 6 : 2 4 : 4	4 872 0 0	5 400 0 0	980 10 0	1 020 12 0

à des ségrégations 4 : 4 avec chacun des parents : elles sont donc sauvages. Les souches b_1 et b_2 ne donnent de recombinaisons ni avec l'un, ni avec l'autre parent : elles sont donc double-mutantes 63.277. Les souches b_3 et b_4 donnent des recombinaisons avec le parent 277, mais non avec le parent 63 : elles sont de génotype 63 et la fréquence des asques 6 : 2 issus des croisements $b_3 \times 277$ et $b_4 \times 277$ est tout à fait en accord avec ce point de vue. Ces faits, ainsi que la ségrégation normale des signes, indiquent qu'il s'agit bien d'une vraie tétrade.

Un tel asque n'est pas assimilable aux asques 4 : 4 observés dans des croisements entre deux mutants à spores blanches dont les caractères dépendent de loci liés : ce n'est pas un ditype recombiné résultant d'un double crossing-over entre les deux loci intéressés. Si l'intervention de deux événements est nécessaire pour comprendre son existence, l'un est une conversion et l'autre un crossing-over. La figure 7, qu'il est intéres-

sant de comparer à la figure 1, le montre clairement (1). Si l'on ajoute que, très rarement, des réversions de 277 vers la forme sauvage ont été

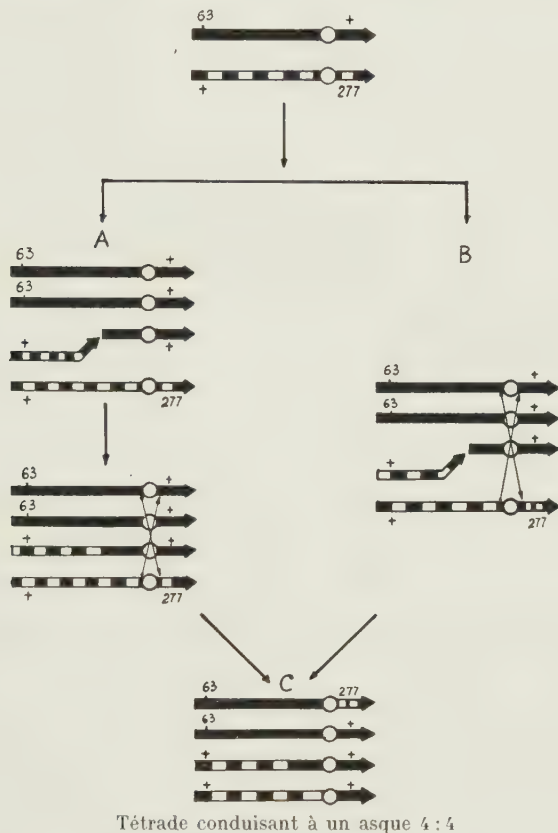


FIG. 7. — Origines possibles d'un asque 4 : 4 issu du croisement 63 $\times$ 277.

observées, un seul événement, un crossing-over, pourrait suffire à rendre compte de la composition de cet asque.

4^o Conclusion.

Le tableau XIII résume la plupart des faits exposés et des résultats acquis dans ce chapitre.

Il est momentanément impossible de dire si l'existence des asques 7 : 1 est liée à la position du site 277 ou à la nature de cette mutation, mais ce site s'intègre néanmoins dans la carte factorielle linéaire de la série 46. Il apparaît d'autre part que la polarité, l'une des caractéristiques du pola-

(1) Nous supposons, pour établir cette figure, que la conversion intéresse les structures néoformées ou *copies*, et le crossing-over les *modèles*.

TABEAU XIII.
RÉSULTAT DE L'ANALYSE DES ASQUES 6 : 2, 7 : 1 ET 4 : 4 ISSUS DES CROISEMENTS
277 / 63, 277 / 46 ET 277 - W.

CROISEMENTS.	SÉGRÉ- GATION.	NOMBRE TOTAL D'ASQUES.	CROSSING- OVER.	CONVERSION.			
				Nombre d'asques.	Nombre d'asques.	Parent.	
Majori- taire.	Minori- taire.						
63 × 277	6 : 2	11	4	7	63	277	Sauvages.
46 × 277	6 : 2	6	0	6	46	277	Sauvages.
W × 277	6 : 2	12	2	10	W	277	Sauvages.
63 × 277	7 : 1	10	0	10	63	277	Sauvages.
W × 277	7 : 1	4	0	4	W	277	Sauvages.
63 × 277	4 : 4	1	Crossing-over et conversion.				Sauvages.

ron, s'étend à tout le segment. Mais le polaron ne constitue pas la totalité de ce segment : une portion, très petite si l'on en juge par la distance 137-277, n'en fait pas partie. Tout se passe comme s'il existait entre ces deux sites une discontinuité, correspondant à une *structure de liaison*, sur laquelle ou très près de laquelle se localiserait le crossing-over. Tout se passe également comme si, en l'absence de crossing-over, cette structure de liaison ne s'opposait pas à la continuité de la replication.

L'asque 4 : 4 étudié résulte de deux événements différents. Ces deux événements (fig. 7), conversion et crossing-over, peuvent d'ailleurs être décalés dans le temps. Tout double événement suppose-t-il toujours la même séquence, conversion et crossing-over ?

Les asques 6 : 2 résultant de crossing-over nous offrent la possibilité d'étudier systématiquement les doubles événements. C'est ce que nous ferons dans le chapitre suivant.

CHAPITRE IV

INTERFÉRENCE NÉGATIVE AU SEIN DE LA SÉRIE 46

Les croisements réalisés entre les divers sites du polaron et le mutant 277 ont conduit, dans certains cas, à des souches double-mutantes résultant de crossing-over. De telles souches, en particulier 63.277, nous ont permis d'obtenir, par croisement avec les simples mutants W, 137 ou

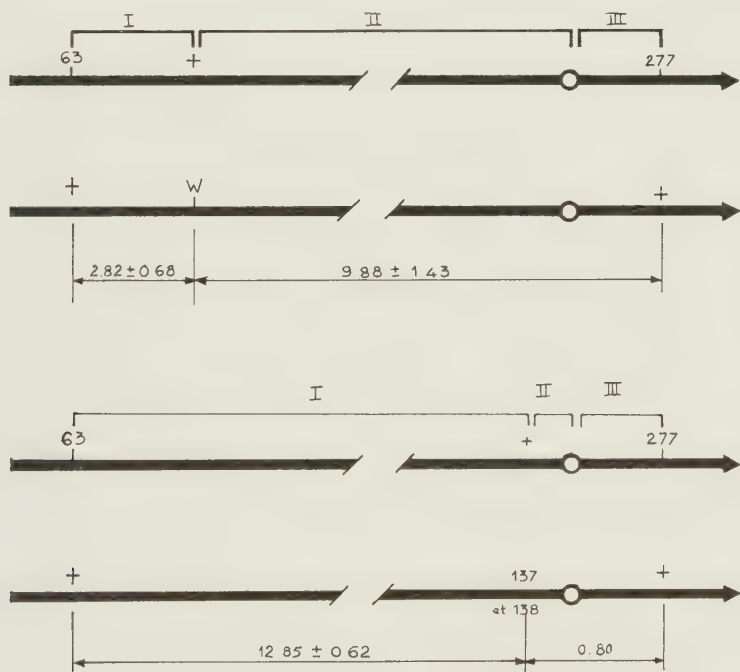


FIG. 8. — Représentation schématique des croisements entre 63.277 et W, 137 ou 138.

138, des asques dont les cellules mères, diploïdes, sont hétérozygotes pour trois couples de sites.

La structure du segment chromosomique 63 → 277, étudié au cours de ces croisements, peut être représentée par la figure 8.

Remarquons tout d'abord sur cette figure que, sur ce segment dont les deux extrémités sont respectivement marquées par les sites mutants

63 et 277, *W* est situé très près de 63, tandis que 137 ou 138 sont situés à l'autre extrémité, très près de 277. La structure de liaison limitant le polaron est représentée par un cercle. Le segment étudié comporte ainsi trois parties dénommées I, II et III. L'apparition d'un recombinant sauvage résultera donc, dans les croisements envisagés, d'au moins deux événements : l'un dans la région I et l'autre dans la zone II + III. Enfin, les distances indiquées sont celles portées sur les figures 2 et 6 et calculées d'après les fréquences des tétrades contenant des recombinants sauvages obtenus dans les croisements doubles hétérozygotes. Ces fréquences ont été revérifiées, à partir d'expériences faites dans les mêmes conditions de milieu que celles dont les résultats vont être rapportés.

1° Fréquence des recombinants sauvages dans les croisements entre 63 . 277 et W, 137 ou 138.

Tous ces croisements ont été réalisés en utilisant les deux souches double-mutantes 63.277 : 3 *b* et 9 *b*, obtenues indépendamment ; chaque croisement a été répété quatre fois dans les mêmes conditions. Les résultats obtenus avec la souche *W* d'une part, ou avec la souche 137 ou 138 d'autre part, se sont révélés très homogènes, quelle que soit la souche double-mutante (3 *b* ou 9 *b*) utilisée. Nous n'avons donc mentionné dans le tableau XIV que les résultats globaux.

TABLEAU XIV.

RÉSULTATS DES CROISEMENTS ENTRE 63.277 ET W, 137 OU 138.

CROISEMENTS.	63 . 277 × W	63 . 277 × 137 63 . 277 × 138
Asques $\left\{ \begin{array}{l} 8 : 0 \dots\dots\dots \\ 6 : 2 \dots\dots\dots \\ 4 : 4 \dots\dots\dots \end{array} \right.$	$\begin{array}{r} 95\ 913 \\ 17 \\ 0 \end{array}$	$\begin{array}{r} 184\ 467 \\ 153 \\ 0 \end{array}$
Fréquence des asques 6 : 2 pour 1 000 tétrades	$0,177 \pm 0,042$	$0,828 \pm 0,066$
Fréquences moyennes attendues pour 1 000 tétrades	$\begin{array}{r} 0,028 \\ (2,82 \times 9,88) \times 10^{-3} \end{array}$	$\begin{array}{r} 0,010 \\ (12,85 \times 0,80) \times 10^{-3} \end{array}$
Coïncidence	6,32	82,80

Ce tableau nous montre que ces croisements conduisent tous à des recombinants sauvages, toujours dans des asques 6 : 2. Leur fréquence, affectée de leur écart type, est également indiquée dans le tableau. Par

fréquences moyennes attendues, nous désignons les produits des fréquences des recombinants sauvages observées dans les croisements $63 \times W$ (région I) et $W \times 277$ (zone II + III) d'une part, et 63×137 (région I) et 137×277 (zone II + III) d'autre part. Ces fréquences sont celles qu'on serait en droit d'attendre en l'absence d'interférence, autrement dit dans le cas où les deux événements se situant l'un dans la région I et l'autre dans la zone II + III seraient indépendants. Enfin, on appelle *coïncidence* le rapport entre les fréquences observées et les fréquences attendues.

Plusieurs faits importants ressortent de la lecture de ce tableau :

a. Dans tous les cas, la coïncidence se traduit par un coefficient très nettement supérieur à 1 ; la fréquence observée des doubles événements est en effet beaucoup plus élevée que la fréquence attendue. Les deux événements conduisant à la formation de recombinants sauvages ne sont donc pas indépendants. C'est le phénomène connu sous le nom d'interférence négative.

b. La valeur de cette interférence, mesurée par la coïncidence, varie avec les croisements réalisés : elle est très différente selon que le double-mutant 63.277 est croisé avec W , dont le site est proche de 63 , ou avec 137 , qui est situé à l'autre extrémité du polaron, près de la structure de liaison.

c. La comparaison des fréquences attendues (0,028 p. 1 000 dans les croisements avec W , et 0,010 p. 1 000 dans les croisements avec 137) nous laissait espérer des pourcentages de doubles événements au moins aussi élevés dans les croisements $63.277 \times W$ que dans les croisements 63.277×137 . Or, les résultats obtenus traduisent exactement le contraire : les doubles événements sont significativement plus nombreux dans les croisements 63.277×137 que dans les croisements $63.277 \times W$.

d. Cette contradiction n'est peut-être qu'apparente. En effet, comparons les rapports entre les fréquences des simples événements de la région I et des doubles événements pour les croisements $63.277 \times W$ et 63.277×137 . Le rapport est de 16,58 (2,82 : 0,17) pour le premier croisement, de 15,67 (12,85 : 0,82) pour le second. Ces deux valeurs ne diffèrent pas statistiquement ; on peut donc admettre que ce rapport est constant et que sa valeur est voisine de 16.

Tout se passe donc comme si la fréquence des doubles événements était proportionnelle à celle des événements intéressant la région I, c'est-à-dire à la longueur de ce segment. En d'autres termes, quel que soit le croisement envisagé, chaque changement de copie dans la région I a une probabilité constante (1 sur 16 ou 62 p. 1 000) d'être suivi par un second événement.

e. Si nous tenons compte d'une part de la proportionnalité qui vient d'être établie et, d'autre part, de la fréquence plus élevée des recombinants sauvages dans les croisements 63.277×137 que dans les croisements $63.277 \times W$, où la région II est pourtant plus grande, il apparaît que la région II ne joue aucun rôle dans la formation de ces recombinants.

Le polaron ne peut donc être le siège de plus d'un événement. Dans ces conditions, le deuxième événement requis pour la formation des recombinants sauvages se situe soit sur la structure de liaison, entre les deux unités postulées, soit dans la région III. Or, dans la zone II + III, la fréquence des tétrades avec recombinants sauvages, dans les croisements 137×277 , est seulement de 0,80 pour 1 000 tétrades, et c'est une estimation par excès, puisque ce chiffre englobe les événements possibles dans la région II, si le site 137 ne marque pas exactement la limite du polaron. Dans les croisements hétérozygotes pour trois couples de sites, la probabilité d'un second événement dans la région III est donc multipliée par un coefficient voisin de 80 ($62 : 0,80$).

La nature du second événement a été recherchée par l'analyse génétique de quelques asques 6 : 2 observés dans les croisements entre 63.277 et 137 ou 138.

2° Résultats de l'analyse des tétrades avec recombinants sauvages issues des croisements entre 63 . 277 et 137 ou 138.

Une dizaine d'asques 6 : 2 provenant de ces croisements ont été isolés et cinq d'entre eux complètement analysés ; tous présentent une composition identique et les résultats de l'analyse de l'un d'entre eux sont reproduits intégralement dans le tableau XV.

TABLEAU XV.
ANALYSE GÉNÉTIQUE D'UN ASQUE 6 : 2 ISSU DU CROISEMENT 63.277×138 .

PHÉNOTYPE.		SPORES BLANCHES.						SPORES NOIRES.	
		b_1	b_2	b_3	b_4	b_5	b_6	n_1	n_2
Souches									
Signes		—	+	—	—	+	—	+	+
Résultats des croisements avec 63 ...	Asques $\left\{ \begin{array}{l} 8 : 0 \\ 6 : 2 \\ 4 : 4 \end{array} \right.$	1 500 0 0	6 000 0 0	3 200 0 0	2 000 21 1	5 340 0 0	— — —	4 : 4 4 : 4 4 : 4	4 : 4 4 : 4 4 : 4
Résultats des croisements avec 277 ..	Asques $\left\{ \begin{array}{l} 8 : 0 \\ 6 : 2 \\ 4 : 4 \end{array} \right.$	4 400 0 0	1 020 0 0	2 800 0 0	4 800 4 0	850 0 0	— — —	4 : 4 4 : 4 4 : 4	4 : 4 4 : 4 4 : 4
Résultats des croisements avec 138 ..	Asques $\left\{ \begin{array}{l} 8 : 0 \\ 6 : 2 \\ 4 : 4 \end{array} \right.$	3 200 3 0	5 320 2 0	5 630 3 0	3 790 0 0	6 600 5 0	— — —	4 : 4 4 : 4 4 : 4	4 : 4 4 : 4 4 : 4

Les sept souches monospores issues de cet asque (la spore b_6 n'a pas germé) ont été croisées avec les mutants correspondant à chacun des trois sites 63, 138 et 277.

Le tableau montre que les deux spores noires sont sauvages, puisqu'elles ont conduit à des ségrégations monofactorielles 4 : 4 avec chacun des trois mutants. Des cinq ascospores blanches, l'une, b_4 , n'a donné aucune recombinaison sauvage avec le parent 138, mais en a fourni avec les parents 277 et 63 : b_4 est donc de génotype 138. Les quatre autres souches issues des spores b_1 , b_2 , b_3 , b_5 ne donnent aucun recombinant sauvage lorsqu'on les croise avec 63 et 277, alors qu'elles en fournissent lorsqu'on les croise avec 138 : elles sont double-mutantes.

En résumé, toutes les tétrades analysées ont la même composition génétique : un des produits de la méiose est sauvage, deux sont identiques au parent double-mutant, le dernier est identique au parent 137 ou 138.

Cette composition s'interprète aisément si l'on admet que les deux événements requis pour l'obtention des recombinants sauvages sont deux conversions que nous pouvons schématiser très simplement (fig. 9).

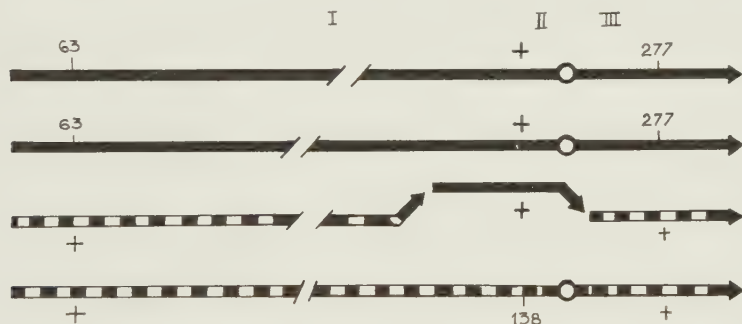


FIG. 9

Cette figure illustre les principaux faits acquis dans cette partie de notre étude.

Nous constatons que, dans les croisements triples hétérozygotes, le site 63 est toujours majoritaire. Ceci se vérifie facilement sur le tableau XV si nous faisons abstraction du site 277. La polarité n'a donc pas changé, ce qui est conforme à nos résultats antérieurs. Mais on peut prévoir que 277 puisse être, dans certains asques, représenté quatre fois et 138 deux fois. Il y aurait, dans ce cas, *inversion de majoritaire*.

Puisque le mécanisme intéressé est la conversion, il faut cependant faire appel à une double conversion, à un double changement de modèle pour rendre compte des deux événements requis dans la formation des recombinants sauvages.

Or, nous avons vu que, sur le polaron, un seul événement peut se produire ; ceci est confirmé par l'absence d'inversion de majoritaire dans les asques 6 : 2 issus de croisements entre mutants d'un même polaron

(Deuxième partie, chap. I). Les deux changements de modèle requis ne peuvent donc se localiser que sur des unités élémentaires différentes. Un premier changement de modèle ayant eu lieu sur le polaron déjà reconnu, le second ne pourra se produire que sur la structure de liaison, ou très près d'elle, mais au-delà. La probabilité du second événement paraît constante : elle est très élevée, au moins quatre-vingts fois supérieure à la fréquence des simples événements observés dans la région III.

Enfin, nous comprenons pleinement la dépendance des deux événements si nous admettons qu'ils intéressent la même copie (fig. 9). Cette dépendance se traduit par une fréquence des doubles événements toujours supérieure à la fréquence attendue : il y a interférence négative.

La valeur de cette interférence négative, mesurée par le coefficient de coïncidence, varie avec la position du site intermédiaire sur le segment envisagé. Cette valeur est d'autant plus forte que le site se trouve plus près de la zone de liaison : l'interférence négative paraît « localisée ».

Est-ce dire que les propriétés de la structure de liaison sont seules responsables du phénomène d'interférence négative ? Les mutants jouent-ils un rôle ? Interviennent-ils par leur nature spécifique, et leur position importe-t-elle ? Nous en discuterons ultérieurement.

CHAPITRE V

INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE SUR LA FRÉQUENCE DES CONVERSIONS ET DES CROSSING-OVER

1° Généralités.

Plusieurs auteurs (notamment SCHWARTZ, 1955, 1958 et TAYLOR, 1957) ont été conduits à se demander si les échanges réciproques (crossing-over) et non réciproques (conversion) relèvent ou non de mécanismes différents intervenant dans des structures différentes du chromosome. Nous avons dû nous-mêmes nous poser la même question en face de certains faits (chap. IV).

Plusieurs voies sont ouvertes pour y répondre, au moins indirectement. L'une d'elles, utilisée par MITCHELL (1957), consiste à montrer qu'une même variation d'un des facteurs du milieu conduit à des conséquences différentes pour l'un et l'autre de ces phénomènes. En provoquant des chocs de température, il augmente considérablement le taux de conversion, alors que la fréquence des crossing-over ne subit aucune variation significative : les distances entre les loci utilisés comme marqueurs demeurent inchangées.

Les mutants de la série 46, qui nous ont permis de mettre en évidence le polaron, constituent un matériel tout à fait favorable pour étudier l'influence des variations de température sur la fréquence des conversions. En effet, dans les croisements entre deux mutants du polaron, il ne se produit que des échanges non réciproques ; chaque tétrade ne subit qu'un seul événement, et il est possible de déceler immédiatement les asques avec recombinants sauvages.

Notre matériel convient beaucoup moins bien pour étudier l'action de la température sur la fréquence des crossing-over. Des échanges réciproques se produisent bien dans les croisements intéressants 277, mais leur fréquence est faible et le caractère réciproque de la recombinaison ne devient évident qu'après l'analyse génétique de chaque asque 6 : 2. Nous avons donc été obligés d'étudier les variations de fréquence du crossing-over en utilisant des mutants liés, mais n'appartenant pas à une même série. C'est la situation offerte par les mutants *E*, 278 et 231 distants de trois à cinq unités. Nous avons alors admis — ce qu'on ne mettait guère en doute jusqu'à maintenant — que toutes les recombinaisons obtenues dans ces cas correspondent essentiellement à des crossing-over.

2° Variation de fréquence des conversions.

Ces variations ont été étudiées dans la descendance des croisements 46×138 et 63×138 . Aucun de ces trois sites n'a montré de particularités, et par ailleurs, sur la carte, 46 et 63 sont suffisamment éloignés de 138 pour que les fréquences d'asques 6 : 2 ne soient pas trop faibles.

Pour chacun des deux croisements envisagés, les fréquences d'asques 6 : 2 ont été déterminées à 18°, 23° et 25°. De plus, nous avons pris soin de distinguer entre les effets de la température au cours de la période de croissance végétative du thalle et ceux qu'elle exerce au cours du développement des fructifications. Ainsi, par exemple, des cultures ont été d'abord placées à 18° pendant tout le temps nécessaire à la croissance du mycélium des deux souches confrontées et ont été réparties ensuite à 18°, 23° et 25°.

Les tableaux XVI et XVII réunissent l'ensemble des résultats correspondant, dans chaque cas, à deux répétitions, respectivement pour les croisements 46×138 et 63×138 .

La lecture du tableau XVI nous apprend tout d'abord que les fréquences

TABLEAU XVI.

FRÉQUENCE DES ASQUES 6 : 2 OBTENUS DANS LES CROISEMENTS 46×138 , RÉALISÉS A 18°, 23° ET 25°.

T° DE FRUCTIFICATION.	T° EN CROISSANCE VÉGÉTATIVE.	NOMBRE D'ASQUES PARENTAUX.	NOMBRE D'ASQUES 6 : 2.	FRÉQUENCES PARTIELLES.	FRÉQUENCE MOYENNE POUR 1 000 TÉTRADES.
18°	18°	10 164	33	$3,29 \pm 0,56$	$2,32 \pm 0,12$
	23°	62 917	166	$2,63 \pm 0,20$	
	25°	28 907	71	$2,45 \pm 0,29$	
	29°	67 054	129	$1,83 \pm 0,32$	
23°	18°	3 925	20	$5,06 \pm 1,23$	$5,78 \pm 0,27$
	23°	20 914	129	$6,16 \pm 0,54$	
	25°	16 982	98	$5,77 \pm 0,58$	
	29°	37 010	209	$5,64 \pm 0,39$	
25°	18°	7 758	62	$7,99 \pm 1,99$	$8,86 \pm 0,34$
	23°	12 473	116	$9,36 \pm 0,86$	
	25°	20 516	210	$10,33 \pm 0,70$	
	29°	31 910	256	$8,02 \pm 0,50$	

des conversions ne sont apparemment pas influencées par les traitements subis au cours de la croissance végétative du mycélium. Un test statistique est absolument inutile pour voir qu'à l'intérieur d'une « classe »

(ou température de fructification) les fréquences « partielles » des asques 6 : 2 sont parfaitement homogènes, aux erreurs d'échantillonnage près.

En outre, il apparaît nettement que la seule température affectant le phénomène de conversion est celle à laquelle se sont développées les fructifications. Les fréquences « moyennes », c'est-à-dire les fréquences calculées compte non tenu des différentes situations au cours de la croissance végétative, diffèrent significativement d'une température de fructification à l'autre. C'est ce que montrent les écarts réduits qui sont tous supérieurs à 2. Leurs valeurs sont les suivantes :

Différence de fréquence entre 18° et 23° : écart réduit = 11,9 ;

— — — 23° et 25° : — — = 7,1 ;

— — — 18° et 25° : — — = 19,1.

Des résultats comparables ont été obtenus dans le croisement 63 × 138 (tableau XVII).

TABLEAU XVII.

FRÉQUENCE DES ASQUES 6 : 2 OBTENUS DANS LES CROISEMENTS 63 × 138, RÉALISÉS A 18°, 23° ET 25°.

T° DE FRUCTIFICATION.	T° EN CROISSANCE VÉGÉTATIVE.	NOMBRE D'ASQUES PARENTAUX.	NOMBRE D'ASQUES 6 : 2.	FRÉQUENCES PARTIELLES.	FRÉQUENCE MOYENNE POUR 1 000 TÉTRADES.
18°	18°	50 422	140	2,76 ± 0,23	3,20 ± 0,16
	23°	30 743	123	3,98 ± 0,35	
	25°	22 327	55	2,45 ± 0,33	
	29°	26 515	108	4,05 ± 0,39	
23°	18°	8 127	65	7,93 ± 0,98	8,73 ± 0,39
	23°	15 415	137	8,80 ± 0,75	
	25°	22 253	174	7,75 ± 0,58	
	29°	27 027	260	9,19 ± 0,59	
25°	18°	4 697	58	12,19 ± 1,60	11,75 ± 0,65
	23°	5 286	63	11,77 ± 1,49	
	25°	8 954	106	11,69 ± 1,13	
	29°	8 796	99	11,11 ± 1,11	

La comparaison de ces deux tableaux est intéressante à deux points de vue :

a. L'importance des différences entre les fréquences moyennes dans les deux types de croisements pour une même température de fructification peut être évaluée au moyen des écarts réduits. Ceux-ci ont les valeurs suivantes : 0,50 à 18° ; 18,50 à 23° ; 5,35 à 25°.

Ceci indique que l'écart entre les distances 63 → 138 et 46 → 138,

mesurées en fréquences d'asques 6 : 2, est hautement significatif à 23°, significatif à 25° et ne l'est plus à 18° (écart réduit inférieur à 2).

b. Une information supplémentaire nous est fournie par l'estimation du Q_{10} . En supposant une variation des fréquences de recombinaison proportionnelle aux variations de la température de fructification, le Q_{10} pour le croisement 63×138 , atteint une valeur de 5,2 lorsqu'il est calculé à partir des fréquences moyennes à 18° et à 25°, et de 5,4 lorsqu'il est déterminé en prenant pour base l'écart entre les fréquences moyennes à 18° et 23°; pour le croisement 46×138 , les Q_{10} sont respectivement de 5,4 et 5,0. Ces valeurs sont toutes très voisines: pour les deux croisements, le Q_{10} du phénomène de conversion est toujours de l'ordre de 5. Ceci confirme l'intervention du mécanisme de conversion dans l'un et l'autre croisements et traduit la nature biochimique des réactions qu'il met en jeu.

3° Variation de fréquence du crossing-over.

Pour des raisons déjà exposées, cette étude a porté sur des croisements entre mutants liés, mais n'appartenant pas à une même série.

Nous avons étudié la descendance de deux de ces croisements : $278 \times E$ et $231 \times E$, pour lesquels ont été réalisées les mêmes situations, les mêmes jeux de température que ceux décrits plus haut pour l'étude des variations de fréquence des conversions.

Le tableau XVIII indique, pour les trois températures de fructification (18°, 23° et 25°), les fréquences des asques avec recombinaisons

TABLEAU XVIII.

FRÉQUENCES CALCULÉES DES ASQUES AVEC RECOMBINANTS SAUVAGES DANS LES CROISEMENTS $278 \times E$ ET $231 \times E$ RÉALISÉS A 18°, 23° ET 25°.

CROISEMENTS.	FRÉQUENCES POUR 1 000 TÉTRADES.		
	18°	23°	25°
$278_9 \times E_7$	$67,04 \pm 2,26$	$75,00 \pm 5,97$	$109,40 \pm 6,83$
$231_5 \times E_2$	$54,54 \pm 1,40$	$76,30 \pm 2,01$	$103,00 \pm 3,50$

supposées être de type crossing-over. Étant donné l'existence d'asques 4 : 4 à côté des asques 6 : 2, ces fréquences ont été calculées en attribuant un coefficient 1 aux tétratYPES (6 : 2) et deux aux asques recombines (4 : 4), de sorte qu'il suffirait de diviser par 2 les résultats du tableau pour établir une carte factorielle classique.

Ce tableau appelle quelques remarques :

Les différences entre les fréquences des recombinaisons sont, d'une manière générale et pour un croisement donné, significatives ou à la limite de la signification, ce qui autorise comme précédemment le calcul d'un Q_{10} (tableau XVIII).

Si nous admettons, comme cela a été avancé au début de cette étude, qu'à de telles distances (trois à cinq unités classiques) il ne se produit que des crossing-over, le Q_{10} des crossing-over aurait pour valeur 2 et serait donc très nettement inférieur au Q_{10} des conversions.

En fait, même à de telles distances, nous avons de bonnes raisons de penser que la conversion est possible, puisqu'elle est décelable dans les croisements *mutants* $\times$ *sauvage* (chap. III).

Si la conversion intervient effectivement et si nous tenons compte de l'influence de la température sur ce phénomène, nous pouvons nous demander si ce facteur physique modifie réellement la fréquence des crossing-over.

Cette question ne peut recevoir immédiatement une réponse ; nous ne pouvons savoir s'il y a une relation entre les deux mécanismes de la conversion et du crossing-over ; mais un résultat essentiel demeure acquis : la température agit différemment sur les fréquences de conversion et sur les fréquences de crossing-over. Le nombre des conversions est seul considérablement accru par l'élévation de la température.

Cette différence de sensibilité des deux phénomènes de conversion et de crossing-over à un même facteur physique, bien que probablement atténuée ici par l'existence de tétrades de types conversion, confondues parmi les tétrades d'origine crossing-over, est en accord avec les observations de MITCHELL et nous conduit à penser que ces deux phénomènes sont fondamentalement différents et mettent en jeu des mécanismes vraisemblablement différents. Il est intéressant de remarquer que seul le Q_{10} des conversions présente une valeur comparable à celle du Q_{10} de la mutabilité spontanée.

CHAPITRE VI

DEUX MUTANTS A COMPORTEMENT ABERRANT : *B* ET 188

Nous avons déjà fait mention de quelques anomalies observées dans les croisements réalisés avec le mutant 188 (*Deuxième partie*, chap. I). Nous avons, d'autre part, signalé que le mutant *B*, obtenu par irradiation d'une ascospore sauvage par les rayons X, pouvait être un mutant à déficience (LISSOUBA et RIZET, 1964).

1° Anomalies de comportement du mutant *B*.

Plus de 500 000 asques issus du croisement entre les souches + et — de ce mutant ont été observés. La descendance de tels croisements est uniformément composée d'asques 8:0; aucune mutation réverse n'a donc été décelée. Ceci n'est pas une particularité du mutant *B*, mais c'est dans le cas de ce mutant que la situation a fait l'objet des observations les plus étendues.

Dans un travail préliminaire (*loc. cit.*), nous avons mentionné que le mutant *B*, croisé avec 63, 46, *W*, 137 et 138, n'avait fourni de recombinants sauvages qu'avec 63. Une étude portant sur des effectifs beaucoup plus importants, et intéressant également le mutant 277, nous a conduit à des résultats qui sont groupés dans le tableau XIX.

TABEAU XIX.

ANALYSE DES CROISEMENTS ENTRE LE MUTANT *B* ET LES DIVERS SITES DE LA SÉRIE 46.

B ×	188	63	46	W	137 et 138	277
Asques $\left\{ \begin{array}{l} 8:0 \text{} \\ 6:2 \text{} \\ 4:4 \text{} \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} 33\ 460 \\ 3 \\ 6 \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} 37\ 727 \\ 5 \\ 0 \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} 24\ 045 \\ 0 \\ 0 \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} 36\ 324 \\ 2 \\ 0 \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} 59\ 280 \\ 3 \\ 0 \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} 19\ 287 \\ 2 \\ 0 \end{array} \right.$
Fréquence des asques 6:2 pour 1 000 tétrades	—	$\begin{array}{c} 0,13 \\ \pm 0,05 \end{array}$	0	$\begin{array}{c} 0,05 \\ \pm 0,04 \end{array}$	$\begin{array}{c} 0,05 \\ \pm 0,03 \end{array}$	$\begin{array}{c} 0,10 \\ \pm 0,07 \end{array}$

On lit sur ce tableau que chacun des croisements réalisés, à l'exception du croisement $46 \times B$, a fourni des recombinants sauvages, et ces recombinants se rencontrent toujours dans des asques 6 : 2, à l'exception du croisement $188 \times B$ qui a fourni également quelques asques 4 : 4.

La fréquence des spores sauvages est toujours très faible et son ordre de grandeur paraît être constant quel que soit le mutant croisé avec B . Il paraît très plausible, en effet, de penser que la fréquence plus élevée observée dans le croisement $188 \times B$, fréquence due d'ailleurs exclusivement à des asques 4 : 4, relève du caractère très particulier du mutant 188 (voir plus loin).

Seuls quelques asques 6 : 2 du croisement $63 \times B$ ont été analysés : chacun d'eux contenait quatre spores de génotype 63 , deux spores B et deux spores sauvages. Dans ce cas, B se comporte donc comme un site mutant situé sur le polaron, très proche de 63 et à droite de celui-ci (63 majoritaire).

En plus de cette information directe, mais très partielle, quelques éléments nous sont apportés par l'étude du croisement $B \times \text{sauvage}$. Plus de 45 000 tétrades issues de ce croisement ont été observées ; elles se répartissent comme suit :

- Asques 4 : 4, 45 080 ;
- Asques 6 : 2, 124, soit 2,75 p. 1 000 tétrades ;
- Asques 2 : 6, 330, soit 7,31 p. 1 000 tétrades.

Nous avons procédé à l'analyse génétique de quelques tétrades aberrantes (6 : 2 et 2 : 6). Sur quatorze asques 6 : 2, neuf correspondaient en réalité à des ségrégations banales 4 : 4, deux des spores blanches étant génétiquement sauvages dans chacun d'eux ; les cinq autres asques résultaient de l'apparition de nouveaux mutants spontanés différents de B . Des douze asques 2 : 6 étudiés, onze correspondaient à des ségrégations banales 4 : 4, deux des spores pigmentées de chacun d'eux étant génétiquement B ; un seul correspondait réellement à une ségrégation 3 : 1, c'est-à-dire à une conversion.

Ainsi, une part appréciable des tétrades aberrantes résulte de l'apparition de nouveaux mutants et la quasi-totalité des autres correspond à de fausses ségrégations. Cette situation est très différente de celle que nous avons observée lors des croisements $\text{sauvage} \times \text{mutants}$ (chap. II). Les véritables ségrégations 3 : 1 et 1 : 3 paraissent ici extrêmement rares : la fréquence des changements de copie dans la région intéressée est très faible. Il nous faut donc admettre qu'un mécanisme, lié à B , empêche les échanges et tout spécialement les conversions.

Ces résultats, plus complets que les premiers (*loc. cit.*), suggèrent l'existence d'une déficience commençant à droite du site 63 (voir fig. 2) et ne recouvrant donc qu'une partie du polaron. S'il en est bien ainsi, les ségrégations 6 : 2 relevées dans les croisements $B \times W$, $B \times 138$, et peut-être $B \times 277$ (tableau XIX), seraient de fausses ségrégations. Les anomalies

relevées dans la descendance des croisements $B \times \text{sauvage}$ rendent cette idée plausible, mais, momentanément, ce ne peut être qu'une hypothèse.

2° Anomalies de comportement du mutant 188.

La souche mutante originelle 188, croisée avec la souche *sauvage*, se comporte comme une mutation plurifactorielle produisant, à côté d'asques 4:4 normaux, de très nombreux asques 6:2. Nous l'aurions donc écartée provisoirement si ce mutant ne s'intégrait pas à la série 46. Cette localisation nous a incité au contraire à tenter de préciser sa nature.

Deux types d'expérience ont été réalisés à partir des croisements $188 \times \text{sauvage}$: des back-cross successifs entre les souches *filles-188* obtenues et la forme *sauvage*, des croisements entre les souches 188 appartenant aux diverses générations de back-cross et les divers termes de la série, en particulier *B*.

a. CROISEMENTS $188 \times \text{SAUVAGE}$. — Nous n'avons envisagé dans la descendance de ces croisements que les souches issues de spores blanches prélevées dans des asques 4:4. Ces souches constituent ce que nous appelons la F_1 ; elles ont été recroisées avec la souche *sauvage*. En prenant les mêmes précautions, nous avons obtenu des souches issues de spores blanches appartenant à trois générations successives de back-cross.

Lorsqu'on croise entre elles les souches F_1 , on obtient, avec une fréquence non négligeable, toutes sortes d'anomalies : asques 6:2, 5:3 et même 4:4. Ces mêmes aberrations subsistent lorsqu'on utilise des souches des générations suivantes, mais leur fréquence diminue très sensiblement. On assiste à une « épuration » graduelle de la souche originelle pour aboutir à des souches telles que celles qui ont été utilisées dans la construction de la carte des sites (fig. 2).

La souche 188 originelle paraît donc perdre ses anomalies après une ou plusieurs générations sexuées.

b. CROISEMENTS ENTRE LE MUTANT 188 ET CHACUN DES AUTRES MUTANTS DE LA SÉRIE 46. — Ces croisements ont conduit, dans la plupart des cas, à de rares asques avec recombinants sauvages, essentiellement dans des asques 6:2. Mais plus remarquable a été l'obtention, avec le mutant *B*, d'asques 4:4 avec des fréquences très appréciables. Ceci demeure vrai quelle que soit la souche 188 utilisée. Cependant, les fréquences ont tendance, là aussi, à décroître lorsqu'on utilise des souches 188 de plus en plus « épurées ».

L'analyse génétique de certains asques avec recombinants sauvages, issus du croisement $188 \times B$, a conduit à la situation suivante : alors que les tétrades apparemment 6:2 se sont révélées en réalité parentales (les deux spores noires étant génotypiquement *B*), les asques 4:4 avaient

une composition inattendue : quatre spores sauvages, quatre spores blanches identiques au parent *B*.

Cette composition génotypique est superposable à celle observée dans un asque 4 : 4 du croisement 188×138 (tableau II). Dans les deux cas, on se trouve en présence d'une réversion de *188*.

La mutation *188* apparaît donc très instable et ses particularités suggèrent l'existence d'une duplication capable de disparaître, mais nos informations sont beaucoup trop fragmentaires pour être comparées aux anomalies du même type, relevées chez d'autres organismes.

TROISIÈME PARTIE

DISCUSSION DES RÉSULTATS

Nous rappellerons d'abord l'essentiel des faits acquis au cours de ce travail en les complétant, chaque fois que cela paraîtra nécessaire, par des informations acquises chez le même organisme par d'autres chercheurs. Cela permettra d'apporter des confirmations de nos propres résultats ou d'élargir la discussion pour en accroître la portée. Nous tiendrons compte en particulier des résultats de l'analyse des mutants à spores blanches appartenant à la série 19 (RIZET, LISSOUBA, MOUSSEAU, 1961).

Les séries de mutants à ascospores blanches, chez *Ascobolus immersus*, correspondent, dans une large mesure, aux gènes dans l'acception habituelle du terme (PONTECORVO, 1958 ; CARLSON, 1959). A l'intérieur d'une série, les divers sites mutationnels peuvent être disposés linéairement (série 46) ou non (série 19). Le segment chromosomique correspondant est composite : il apparaît comme formé de sous-unités contiguës réunies par une structure particulière. Ce sont ces sous-unités que nous avons désignées par le terme de polaron.

Le polaron est un court segment chromosomique sur lequel les recombinaisons sont rares et toujours du type non réciproque. Autrement dit, dans un croisement hétérozygote pour deux couples de sites, les tétrades avec recombinants sauvages ne contiennent jamais de recombinants double-mutants. Ces tétrades correspondent à une ségrégation 2 : 2 pour l'un des couples (parent majoritaire) et 3 : 1 pour l'autre (parent minoritaire). Le caractère majoritaire ou minoritaire d'un parent ne dépend que de la position du site correspondant sur la carte du polaron (*Deuxième partie*, chap. I). Des ségrégations aberrantes 3 : 1 (ou 1 : 3) s'observent également dans la descendance des croisements *sauvage* × *mutant* : leur fréquence varie avec la position du site mutant envisagé (*Deuxième partie*, chap. II). L'ensemble de ces faits indique bien que le polaron est une unité polarisée.

L'étude d'un nouveau site mutant, 277, localisé à droite de tous les autres sur la carte, a montré que la totalité du segment chromosomique représentant la série 46 ne correspond pas à un unique polaron. En effet, les asques 6 : 2 issus des croisements entre 277 et les autres termes de la série (en particulier 63, 46 et W) sont de deux sortes : les uns sont encore du type conversion, mais les autres sont des tétratypiques classiques résultant d'un crossing-over. Le site 277 est donc localisé en dehors du premier

polaron. Une situation identique a été trouvée également dans la série 19 (*loc. cit.*). Une trentaine de sites mutants se répartissent, en tenant compte des fréquences de recombinaisons, en trois groupes qui se succèdent sur la carte dans l'ordre A, B et C. Les sites appartenant aux groupes B et C définissent très clairement un polaron : il semble en être de même pour les sites du groupe A. Les croisements entre mutants du groupe A et mutants du groupe B ou du groupe C fournissent des asques 6 : 2 résultant les uns d'un crossing-over, les autres d'une conversion. On peut rendre compte de ces faits en admettant que le segment chromosomique correspondant à cette série est constitué par deux polarons séparés par une structure de liaison où se localisent les crossing-over. La situation serait la même pour la série 46, avec cette différence que le deuxième polaron ne serait jusqu'ici marqué que par un seul site connu (277).

En plus de ces points fondamentaux, l'analyse des croisements entre 277 et les autres mutants de la série 46 a apporté plusieurs faits nouveaux et conduit à des notions importantes :

— Dans les asques 6 : 2 d'origine conversion issus des croisements 277×63 , 277×46 , $277 \times W$, le parent 277 est toujours minoritaire : il semble donc que la polarité se poursuive au-delà de la limite du premier polaron, à travers la structure de liaison (*Deuxième partie*, chap. III).

— Dans les asques 6 : 2 d'origine conversion issus du croisement 277×137 (277 et 137 étant des sites voisins placés de part et d'autre de la structure de liaison), c'est au contraire le parent 277 qui est majoritaire (1). Cette *inversion de majoritaire* ne traduit pas un changement dans la polarité ; elle s'explique par l'existence de deux conversions successives, intéressant la même chromatide et se situant la première sur le premier polaron, la deuxième soit à la structure de liaison, soit près de cette structure, sur le deuxième polaron (*Deuxième partie*, chap. IV). Cette interprétation imposée par l'étude des triples hétérozygotes explique également de nombreux faits concernant la série 19 (*loc. cit.*).

— En dehors des asques parentaux 8 : 0 et des asques 6 : 2, ces croisements ont fourni de très rares ségrégations 4 : 4 et surtout, avec une fréquence faible, mais non négligeable, des asques 7 : 1. Cette dernière ségrégation impaire est également connue dans la série 19 (croisements intéressant le mutant 60 du groupe A).

L'obtention de double-mutants résultant d'un crossing-over a permis de réaliser des triples hétérozygotes (« croisements à trois facteurs » de CHASE et DOERMANN, 1958). Les asques 6 : 2 issus de tels croisements résultent tous d'au moins deux événements (deux conversions). Leur fréquence est anormalement élevée ; elle est significativement plus grande que la fréquence attendue. Nous sommes en présence d'un cas d'interférence négative. Tout se passe comme si, une fois produit le premier événement dans le segment limité par les deux sites les plus à gauche

(1) Résultats inédits fournis par J.-L. ROSSIGNOL.

(région I), la probabilité qu'il en intervienne un second dans le segment situé à droite était une constante. Dès lors, la fréquence des asques à recombinants sauvages est proportionnelle à l'importance de la région I et l'interférence négative d'autant plus élevée que celle-ci est plus étendue. La fréquence accrue de la seconde conversion au niveau de la structure de liaison marque bien le caractère localisé de cette interférence.

Ces faits soulèvent de nombreux problèmes, mais certains d'entre eux pourront être envisagés plus efficacement à propos de travaux actuellement en cours. Nous discuterons ici de quelques aspects du problème de la recombinaison, de la notion nouvelle de polaron, et de celle d'interférence négative.

I. — DIVERSES MODALITÉS DU PHÉNOMÈNE DE RECOMBINAISON CHEZ *ASCOBOLUS IMMERSUS*

Le mieux connu des processus de recombinaison dans le cas des gènes ou sites liés est sans aucun doute le crossing-over (STERN, 1931 ; CREIGHTON et McCLINTOCK, 1931 ; BROWN et ZOHARY, 1955). Bien que son mécanisme soit encore discuté (WINKLER, 1932 ; MOSE et TAYLOR, 1955 ; FREESE, 1957 ; MITRA, 1958 ; DE SERRES, 1958), on sait que, dans tous les cas, les recombinaisons résultant d'un événement unique entre deux chromatides non sœurs conduisent toujours à des chromosomes ayant échangé leurs parties homologues : *l'échange est dit réciproque*.

La découverte de mécanismes parasexuels chez les micro-organismes a permis de mettre en évidence un autre type de recombinaison : le phénomène de *conversion génique* (LINDEGREN, 1953, 1955 ; DEMEREC, 1928, 1954 ; ROMAN, 1956). On a parlé également pour désigner ce mécanisme de *conversion unidirectionnelle* (COE, 1958 ; BRINK, 1958), et de *transmutation* (BEADLE, 1957). Son originalité réside dans le fait qu'il ne conduit qu'à des échanges non réciproques (MITCHELL, 1955 ; GILES et coll., 1957 ; CASE et GILES, 1958 ; STADLER, 1958 ; ROMAN, 1958 ; LEUPOLD, 1958 ; OLIVE, 1959).

La plupart de ces auteurs ont pu mettre en évidence ces deux mécanismes de recombinaison entre des marqueurs appartenant, ou non, à une même unité de fonction. Le fait qu'on les rencontre également dans l'étude d'une même série de mutants chez *Ascobolus* ne constitue donc pas un fait nouveau. Mais deux aspects des phénomènes sont réellement nouveaux : le premier, c'est la prédominance des conversions par rapport à l'autre type de recombinaison ; le second, c'est la localisation de chacun des deux processus de recombinaisons sur des éléments différents de la structure chromosomique.

Ce dernier point ressort clairement du fait que les asques à recombinaisons sauvages peuvent se classer en trois catégories : les asques à crossing-over seul qui proviennent nécessairement des croisements entre mutants situés de part et d'autre d'une structure de liaison, les asques d'origine conversion et les asques à double événement. Ces derniers sont eux-mêmes de deux types : les uns proviennent d'une double conversion, et ce sont les plus nombreux ; les autres résultent d'une conversion et d'un crossing-over, l'association n'ayant été rencontrée qu'une fois.

Nous allons discuter maintenant quelle est la nature de l'événement conversion observé dans notre cas et les modalités d'association de deux conversions successives. Il convient, en effet, de préciser ces deux points. étant donné que, d'après les auteurs (BONNER, 1956 ; ST LAWRENCE et BONNER, 1957 ; K. MITCHELL, 1957) les modalités de ce type de recombinaison paraissent assez diverses selon les organismes.

Tout d'abord, l'absence de mutations reverses chez la plupart des mutants étudiés ne permet pas d'identifier la conversion à une mutation (K. MITCHELL, 1957 ; GILES, 1958), mais indique qu'il s'agit seulement d'une conséquence de l'hybridation. La mise en évidence d'une polarité et le « respect des relations de *linkage* » (FREESE, 1957 ; LEUPOLD, 1958 ; PRITCHARD, 1959) sont, d'autre part, incompatibles avec la notion de conversion telle que la définit LINDEGREN (1953, 1955) ; la conversion ne résulte pas d'une « interaction entre les allèles dominants et récessifs dans un hétérozygote ». Nous ne pouvons pas davantage admettre avec WINGE (1955) et SERRA (1958) qu'elle soit une conséquence de « l'effet de position ».

Nous pensons pouvoir expliquer toutes les particularités des conversions observées au cours de ce travail, en admettant qu'elles ont pour origine des anomalies survenant au cours de la replication du matériel génétique. Dans le cadre de l'hypothèse de WATSON et CRICK (1953), on peut rendre compte de tous les faits par la théorie du changement de modèle (*copy-choice*) (LEDERBERG, 1955 ; LEVINTHAL, 1954, 1956). Les recombinants d'origine conversion se formeraient lorsque, au cours de la synthèse de nouvelles molécules d'A. D. N., une réplique se détache de son modèle avant d'être achevée, attirée, pour une cause inconnue, par un autre modèle. D'après MITCHELL (1955), ce processus entraîne une double replication du second modèle, tandis que le premier n'est plus copié dans la partie correspondante, et nous devons admettre avec TAYLOR (1958) que « le long des deux modèles accolés la replication n'est pas nécessairement synchrone ».

Ce schéma peut rendre compte de la « longueur » de la double replication (STRICKLAND, 1958). Ici, le changement de copie, une fois amorcé, se poursuit jusqu'à la structure de liaison, ou même éventuellement au-delà. Ce schéma a également le mérite de fournir une explication très satisfaisante de la caractéristique la plus importante du polaron : sa polarité.

Celle-ci se comprend très aisément si l'on suppose que la replication débute toujours à la même extrémité. Dans les croisements *sauvage* $\times$ *mutant*, les changements de modèle pour un site donné seraient d'autant plus nombreux que ce site est plus éloigné de cette extrémité ou d'une *structure de liaison* qui pourrait jouer le rôle d'un relais (RIZET, LISSOUBA et MOUSSEAU, 1961). Cette conception permet également de comprendre « le respect des relations de linkage ».

Sur les cas d'association de deux conversions, nous pouvons faire les remarques suivantes. Les recombinants résultant de deux conversions ont été observés tout d'abord dans des croisements hétérozygotes pour trois couples de sites. Dans ces croisements, des recombinants de type sauvage ne peuvent se produire qu'à la faveur d'un événement double. L'analyse des tétrades à spores sauvages nous a permis de préciser qu'il s'agissait d'une double conversion intéressant une seule chromatide (*Deuxième partie*, chap. IV).

La figure 9, qui schématise ce mécanisme, laisse prévoir une inversion de majoritaire dans le cas de sites placés de part et d'autre de la structure de liaison et proches de celle-ci. En effet, dans un croisement hétérozygote pour deux couples de sites ainsi localisés, celles des tétrades avec recombinants sauvages qui ne résultent pas d'un crossing-over doivent résulter le plus souvent d'une double conversion et, par conséquent, présenter une inversion de majoritaire. En retenant le sens arbitrairement choisi pour la carte des sites, cela revient à dire que la ségrégation 3 : 1 correspondra au site de gauche et la ségrégation 2 : 2 au site de droite, sans que cela traduise un changement de sens dans la replication au niveau de la structure de liaison.

Cette interprétation rend parfaitement compte du résultat des croisements 137×277 . Elle explique également d'une manière entièrement satisfaisante les résultats du croisement A $\times$ B de la série 19 (*loc. cit.*). Cependant une ambiguïté subsiste quant à la place exacte du deuxième événement, qui peut se situer soit exactement au niveau de la structure de liaison, soit près de cette structure, mais sur le deuxième polaron. Seule cette dernière alternative correspondrait à une conversion indiscutable, car on peut rendre compte de la précédente en disant simplement que le changement de modèle, résultant de la première conversion, s'arrête à la structure de liaison. Dans ce cas, il n'y aurait pas de seconde conversion, mais un simple retour de la copie « parasite » vers son modèle originel. La différence entre les deux alternatives ne prendra tout son sens que lorsque nous comparerons nos résultats au modèle théorique. Avec ce modèle, il paraît normal qu'un changement de copie, initié sur un polaron, ait une probabilité élevée de ne pas se poursuivre au-delà de la première structure de liaison rencontrée.

Les observations touchant aux diverses origines possibles pour les recombinants sauvages et à la localisation du crossing-over et de la conver-

sion nous permettent d'attribuer à ce qui a été appelé structure de liaison trois propriétés essentielles. Elles sont le siège exclusif des crossing-over ; elles peuvent servir de point d'arrêt pour la double replication ; et enfin, par cela même, elles permettent ou favorisent les événements doubles.

L'étude des recombinants sauvages de toutes origines nous amène à réviser la notion de « distance » sur les cartes factorielles. Une distance se mesure habituellement par la fréquence des recombinants. Dans le cas d'un court segment chromosomique chez un organisme où l'analyse des tétrades est possible, cela revient à évaluer la demi-fréquence des tétratypés. En effet, classiquement, on envisage uniquement le crossing-over.

Dans le cas de croisements intéressant des sites localisés sur des polarons différents de la série 46, les recombinants sauvages résultent d'un crossing-over ou d'une conversion, d'un événement unique ou d'un événement double, et nous ne savons pas, par la simple observation, distinguer les tétrades correspondant à un ou à deux produits recombinants. La fréquence globale mesurée est alors une donnée très complexe dont il n'est pas sûr que les diverses composantes soient indépendantes. Ceci peut nous amener à penser, par exemple, que l'intégration de 277 à la carte des sites, avec vérification de la règle d'additivité des fréquences, n'est peut-être qu'une coïncidence qui reste à interpréter. Cette idée est renforcée par l'impossibilité de placer sur une même carte linéaire les sites des groupes A, B et C de la série 19 (*loc. cit.*).

Lorsqu'il s'agit de sites placés sur un même polaron, la situation, au moins en apparence, est beaucoup plus claire. Si un seul événement correspondant toujours au processus de conversion peut se produire sur le parcours de cette unité, on doit aboutir, quels que soient les sites étudiés, à une additivité parfaite. Il n'en demeure pas moins que l'unité définie par les fréquences de conversion n'est nullement équivalente à l'unité MORGAN basée sur les fréquences de crossing-over.

II. — NOTION DE POLARON ET STRUCTURE DU MATÉRIEL GÉNÉTIQUE

Le support matériel de l'hérédité mendélienne est actuellement considéré comme constitué par de l'A. D. N. Les molécules de cette substance sont formées de deux chaînes hélicoïdales reliées entre elles par des ponts d'hydrogène et complémentaires l'une de l'autre pour la séquence des bases. La replication de ces molécules suppose la séparation des deux anciennes chaînes et la synthèse d'une nouvelle chaîne complémentaire, ou copie, le long de chaque chaîne polynucléotidique parentale, ou modèle.

La replication est semi-conservatrice (WATSON et CRICK, 1953; KACSER, 1956; DOTY et coll., 1960; WILKINS, 1956).

A la suite d'études cytologiques après marquage par des isotopes radioactifs, on a montré que le chromosome lui-même était constitué par deux sous-unités complémentaires et que la replication s'étendait sur toute sa longueur (HOWARD et PELC, 1951; PLAUT et MAZIA, 1954; MAZIA, 1956; LEVINTHAL, 1956; TAYLOR, 1957, 1958, 1960). On a admis également que la « recombinaison n'était qu'un effet secondaire de la réassociation des structures sub-cellulaires qui déterminent les différences » ou, sous une forme plus précise, qu'elle n'est qu'une conséquence de la replication de l'A. D. N. (JACOB et WOLMANN, 1958).

Pour des raisons mécaniques imposées par la nécessité du déroulement des spires pendant la replication, TAYLOR, en particulier, admet que le chromosome doit être un arrangement de molécules reliées entre elles par des « protein-links », ou nœuds, de telle sorte qu'une seule des hélices soit attachée à chaque nœud (TAYLOR, 1957). Les résultats obtenus par la désintégration des chromosomes sous l'action de détergents ou de certains sels (MESELSON et STAHL, 1958) peuvent être considérés comme une vérification de cette conception : « le chromosome serait un aggrégat de particules d'A. D. N. » d'une taille assez uniforme et d'un poids moléculaire constant.

C'est en tenant compte de telles informations, et des résultats d'analyses génétiques, que plusieurs auteurs ont conçu des modèles théoriques, dont le but est de rendre compte de la structure du chromosome (SCHWARTZ, 1955, 1958; TAYLOR, 1957, 1958; FREESE, 1957, 1958; ROMAN et JACOB, 1958). D'après le modèle de FREESE et TAYLOR, ou *modèle linéaire duplex*, le chromosome serait constitué par la juxtaposition de molécules d'A. D. N., reliées par des structures particulières appelées « strong bounds » (FREESE) ou « protein links » (TAYLOR). C'est à ce modèle que nous comparerons nos propres résultats. Le matériel génétique correspondant à la série 46 (ou à la série 19) se présente comme la succession de deux polarons, réunis par une structure de liaison. Nous retrouvons donc, par des voies entièrement différentes, les grandes lignes du modèle de TAYLOR et FREESE. Nous allons montrer que nos structures de liaison présentent les propriétés des « strong bounds » ou « protein links » de ces auteurs, et que nos polarons offrent les mêmes caractéristiques que les « particules » d'A. D. N.

Pour TAYLOR et FREESE, c'est au niveau des « protein links » et à ce niveau-là seulement que se produiraient les échanges réciproques ou crossing-over (FREESE, 1958; TAYLOR, 1958). Or, chez *Ascobolus*, la structure de liaison est, par définition même, le lieu où se localise le crossing-over (*Deuxième partie*, chap. III). Ces deux éléments remplissent donc les mêmes fonctions.

TAYLOR et FREESE envisagent la recombinaison comme une conséquence de la replication. Pour TAYLOR, la replication peut débiter à

n'importe quel bout du modèle : elle se propage le long des « particules » : elle peut franchir les nœuds et y subir des échanges réciproques ou non (fig. 10, E, B, D). Les résultats de notre analyse génétique précisent et complètent ce que le modèle ne pouvait que suggérer. Tout d'abord, la replication s'initie toujours à partir de la même extrémité du segment

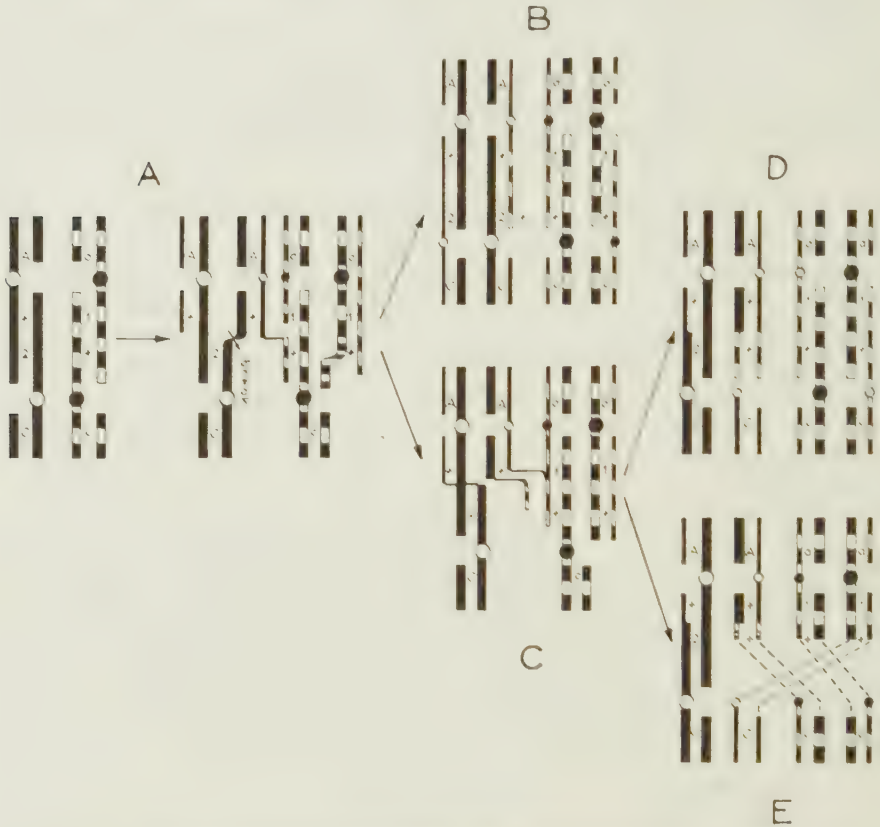


FIG. 10. — Structure et replication des chromosomes à la méiose, d'après TAYLOR (1958)

envisagé : autrement dit, le segment est polarisé. Entre deux mutants d'un même polaron, le majoritaire sera toujours le plus proche de l'origine de la replication et le minoritaire le plus éloigné. Entre deux mutants situés de part et d'autre d'une structure de liaison, la prévision est plus délicate, et l'inversion de majoritaire peut être la règle, un troisième site est alors nécessaire pour montrer qu'il ne s'agit pas d'une inversion de la polarité. Ainsi, le caractère majoritaire d'un site n'est pas uniquement fonction de sa position vis-à-vis de l'origine de la replication ; il dépend aussi de sa place par rapport à une structure de liaison.

Il est bien établi que la polarité s'étend à la totalité du segment correspondant à une série. Déborde-t-elle les limites de ce segment ? Se pour-

suit-elle sur le chromosome entier comme le suggèrent les autoradiographies (TAYLOR, 1958, 1960 ; GALL, 1959) ? C'est poser le problème de savoir si, chez *Ascobolus*, le chromosome est un « aggrégat » de polarons, comme il est, dans le modèle de TAYLOR et FREESE, un « aggrégat » de particules d'A. D. N. Ceci ne pourra être résolu que par l'étude de segments chromosomiques plus longs ; la série 75, actuellement en cours d'étude, paraît répondre à cet objectif (RIZET, LISSOUBA et MOUSSEAU, 1961). Il n'est pas possible, évidemment, de préjuger de la constance de la polarité sur toute la longueur du chromosome (TAYLOR, 1960).

TAYLOR envisage les conséquences de la structure chromosomique prévue par son modèle. La recombinaison entre différents sites de la même particule doit résulter de *copy-choice* suivi d'une double replication. En d'autres termes, entre deux nœuds, la conversion est le seul mécanisme possible et la double replication, une fois amorcée, se poursuit probablement sans subir d'autres changements jusqu'au nœud terminal. A ce niveau, l'auteur prévoit une « compétition » pour le passage à l'entre-nœud suivant ; le rattachement au nouveau lien pourra se faire soit par un échange non réciproque (fig. 10, D), soit par des échanges réciproques (crossing-over) associés à un événement non réciproque (fig. 10, E).

A l'appui de ces prévisions, nous pouvons, une fois de plus, apporter nos résultats. Sur le polaron, les échanges sont exclusivement non réciproques (*Deuxième partie*, chap. I). Ce que le modèle théorique prévoit. L'analyse génétique le prouve, car le polaron ne peut être le siège que d'un seul événement. Quand un changement de modèle se produit en un point quelconque du polaron, il en résulte une double replication qui se poursuit sans interruption jusqu'à la structure de liaison. A ce niveau deux alternatives sont possibles ; ou bien la double replication progresse au-delà de la structure de liaison, ou bien elle s'arrête, la copie revenant alors vers son modèle d'origine. Le premier cas correspond aux croisements 277×63 , 277×46 , $277 \times W$ où le site 277 s'est toujours montré minoritaire (*Deuxième partie*, chap. III), le second aux croisements hétérozygotes pour trois couples de sites (*Deuxième partie*, chap. IV) et aux croisements 137×277 (série 46) ou $A \times B$ (série 19).

L'analyse des croisements hétérozygotes pour trois couples de sites, ou « croisements à trois facteurs » (CHASE et DOERMANN, 1958), n'a pas permis, chez *Ascobolus*, de déceler d'échanges réciproques, associés ou non à des échanges non réciproques.

Le modèle théorique de FREESE et TAYLOR permet-il d'expliquer les ségrégations observées ? La ségrégation 7 : 1 (ou 3 : 5 lorsqu'on envisage un seul site mutant) a été théoriquement prévue : elle est obtenue chaque fois que le changement de modèle intéresse une seule sous-unité, ce qui conduit, à l'issue de la méiose, à un *chromosome hétérozygote* (fig. 10, B). Il s'agirait d'un événement nécessairement rare, l'homogénéité de chacun des produits de la méiose étant la règle très générale. Pour expliquer les

ségrégations 3 : 1 et 1 : 3, qui sont en fait de beaucoup les plus nombreuses. TAYLOR suppose une rupture de la sous-unité originelle lorsque sa copie change de modèle. Dès lors, il y aurait une double replication suivie, peu après, d'une replication normale. Ceci implique un asynchronisme dans la replication des deux éléments homologues (fig. 10, A, C).

Notre analyse n'apporte pas d'informations précises sur les mécanismes qui sont à l'origine des diverses ségrégations observées. Nous ne pouvons donc ni confirmer, ni infirmer les vues de TAYLOR. Nous pouvons toutefois nous interroger sur la cause des ruptures postulées, et nous demander pourquoi, dans le cas des ségrégations 5 : 3, il y a changement de copie sans rupture.

La réalité pourrait bien être moins simple et le problème ne pas se circonscrire uniquement autour de l'existence ou de la non-existence d'une « rupture ». La complexité de ce problème nous est suggérée par l'étude des asques 7 : 1. Dans la série 46, ces asques n'apparaissent que dans les croisements impliquant le mutant 277 ; dans la série 19 (*loc. cit.*), cette anomalie est attachée au mutant 60. La fréquence de ces asques est loin d'être négligeable, contrairement aux prévisions de TAYLOR. On peut alors penser que l'aptitude à produire des asques 7 : 1 est liée soit à la position du site, soit à une particularité de la mutation.

En faveur de cette dernière hypothèse, notons que, dans la série 19, un homo-allèle du mutant 60 ne fournit pas d'asques 7 : 1, mais ceci ne constitue pas une preuve puisque cet homo-allèle peut correspondre à une déficience.

Dans le cadre de la première hypothèse, admettons avec LEVINTHAL et CRANE (1956) que le danger de rupture d'une particule d'A. D. N. croît avec sa longueur. Nous pouvons supposer qu'à ses extrémités, près des structures de liaison, elle est suffisamment stable pour que l'hélice pré-existante ne soit qu'exceptionnellement rompue. La formation d'asques 6 : 2 serait ainsi exclue et seuls les asques 7 : 1 pourraient se produire.

Les ruptures seraient au contraire beaucoup plus fréquentes dans les régions éloignées des structures de liaison. Cela conduirait alors à une fréquence relativement élevée d'asques 6 : 2. Cette idée a l'avantage de nous montrer sous un jour intéressant la répartition très particulière des sites sur la carte. Dans la série 46, ces sites paraissent groupés aux extrémités du polaron et d'une manière plus générale au voisinage immédiat des structures de liaison. Le phénomène est encore plus net dans la série 19 (*loc. cit.*) où nous avons parlé de groupes de sites ; et il ne s'agit pas là d'une observation nouvelle (GREEN et GREEN, 1956 ; BENZER, 1957).

Entre deux « protein links », ou entre deux structures de liaison, se trouve une région chromosomique qui, dans les deux cas, ne subit qu'un seul type d'échange (non réciproque) et un seul événement à la fois. Nous

pouvons raisonnablement avancer que le polaron correspond aux « particules » d'A. D. N. sur le schéma de FREESE et TAYLOR. Il est impossible momentanément de savoir avec certitude si ces « particules » sont des molécules. Mais nous pensons rejoindre les préoccupations de BEADLE (1957) en définissant notre polaron comme la plus petite portion du chromosome susceptible d'être « le siège d'un mécanisme interprété comme un changement de modèle... et différent du crossing-over conventionnel ». Le polaron représenterait également la plus petite partie du matériel génétique sur laquelle la double replication peut se poursuivre sans interruption, car la prémunition contre le crossing-over, c'est-à-dire contre les échanges réciproques, cesse au niveau de la structure de liaison.

La différence de localisation de chacun des deux processus fondamentaux de la recombinaison, prévue par le modèle théorique de FREESE et TAYLOR et établie expérimentalement chez *Ascomolus*, corrobore l'idée que ce sont deux mécanismes distincts (TAYLOR, 1957 ; ŠCHWARTZ, 1955, 1958 ; ROMAN et JACOB, 1958). La conversion, liée à la replication, ne toucherait que les produits néo-formés. Le crossing-over cesse d'être une rupture fortuite du matériel génétique : il permet de nouvelles associations intéressant aussi bien les nouvelles chaînes que les anciennes (*Deuxième partie*, chap. III ; TAYLOR, 1958). La « compétition » envisagée par TAYLOR au moment des raccords entre les « particules » et les nœuds suppose une sorte de déboîtement au niveau de ces articulations particulières, ce qui rend le crossing-over plus souple, moins fortuit puisque lié dans une large mesure au « copy-choice ». Si cette hypothèse relative au crossing-over est exacte, un échange non réciproque au niveau de la structure de liaison peut valablement être interprété comme un *demi crossing-over*.

III. — INTERFÉRENCE NÉGATIVE

Le terme d'interférence négative, utilisé pour désigner l'excès des doubles ou multiples échanges sur les fréquences attendues demeure « un terme purement descriptif et non une explication » (PRITCHARD, 1955). La difficulté d'une explication réside probablement dans la complexité de cette interférence ; en effet, plusieurs facteurs interviennent : la recombinaison, le degré d'hétérozygotie, peut-être la nature des mutants et, comme nous le verrons, la structure même du chromosome. Cette complexité présente au moins un avantage : la possibilité d'aborder l'étude de son déterminisme par plusieurs voies.

Comme le souhaitait PRITCHARD (1957), nous avons pu dissocier, grâce à l'analyse des tétrades, quelques-uns de ces facteurs. Nous montrons, en effet, que, chez *Ascomolus*, l'interférence négative est une consé-

quence de l'existence des polarons et des structures de liaison. Nous verrons qu'il est possible de retrouver à partir de cette interprétation les principales caractéristiques reconnues au phénomène (PRITCHARD, 1955, 1957, 1960; CALEF, 1957; CHASE et DOERMANN, 1958).

1° Interférence négative et structure du matériel génétique.

L'interférence négative se mesure par un coefficient de coïncidence supérieur à 1, ce qui signifie que les deux ou multiples événements qui conduisent à des recombinants ne sont pas indépendants. Quel est, dans le cas qui nous intéresse, le sens biologique de cette dépendance ?

Reportons-nous aux figures 8 et 9 (*Deuxième partie*, chap. IV). Ces figures schématisent un « croisement à trois facteurs » et définissent trois régions : I et II (premier polaron), III (second polaron). La figure 9 nous montre que les deux événements conduisant à des recombinants sauvages intéressent la même chromatide, la même double hélice ; celle-ci subit un double changement de modèle, le premier dans la région I sur le premier polaron, le second au niveau de la structure de liaison, ou près d'elle, dans la région III.

Par l'étude de deux croisements différents « à trois facteurs », nous avons montré que chaque changement de modèle initié dans la région I avait une probabilité à la fois constante et très élevée d'être suivi d'un second événement. C'est donc cet accroissement subit des échanges au niveau de la structure de liaison qui se traduit par un coefficient de coïncidence élevé. L'interférence négative serait ainsi la conséquence de l'existence même des structures de liaison et de l'accroissement des échanges au niveau de ces structures : elle est localisée. Un autre fait confirme cette localisation : le coefficient de coïncidence augmente très rapidement lorsque la limite de la région I se rapproche de la structure de liaison. Ainsi, lorsque, dans le « croisement à trois facteurs », on remplace le site *W* par le site 137, situé plus près de la structure de liaison (fig. 8), le coefficient de coïncidence passe de 6 à 80.

L'interférence négative mise en évidence chez *Ascobolus* répond donc tout à fait aux caractéristiques de « l'interférence négative localisée » définie par PRITCHARD (1960). Elle rappelle également, au moins qualitativement, celle décrite par CHASE et DOERMANN (1958) pour qui « une interférence négative sera d'autant plus prononcée que les marqueurs étudiés sont plus proches, puisque leur chance d'inclusion dans une même zone d'échange (*switch areas*) s'accroît ».

2° Interférence négative et recombinaisons.

La conclusion de CHASE et DOERMANN (*loc. cit.*) comporte à la fois le fait observé et l'hypothèse explicative retenue. Pour ces auteurs, « bien

que les chromosomes homologues soient appariés sur toute leur longueur (appariement cytologique), l'appariement effectif n'intervient que dans de petites régions, à l'intérieur desquelles la probabilité d'échange est élevée ». Les zones d'échanges, ou « switch areas », combinent ainsi le concept de « l'effective pairing » développé par PRITCHARD (1955) au modèle de « replication alternative » proposé par LEDERBERG (1955). Ces zones rappellent encore, par leurs caractéristiques, les zones d'appariement incomplet de CALEF (1957).

Un modèle « d'appariement effectif » ou de zone d'échange peut-il rendre compte de nos résultats ? On peut expliquer l'excès des recombinants issus de doubles événements en imaginant une zone d'échange qui serait limitée à la structure de liaison. Toutefois, cette interprétation entraîne l'alternative suivante : ou « l'appariement effectif » sur la structure de liaison réduit la probabilité d'appariement des régions voisines, ou il ne réduit pas cette probabilité. La première hypothèse n'explique pas la proportionnalité entre la fréquence des échanges dans la région I (fig. 8) et celle des doubles événements ; la seconde rend le « modèle » inutile à moins d'admettre qu'une conversion n'exige pas d'« appariement effectif ».

Une autre difficulté se présente. On admet généralement qu'au niveau de la zone d'échange (ici, la structure de liaison) la plupart des événements sont de type crossing-over (PRITCHARD, 1955 ; STADLER, 1958 ; DE SERRES, 1958). Or, chez *Ascobolus*, les asques 6 : 2 analysés et issus des croisements 63.277×277 (*Deuxième partie*, chap. IV) résultent d'échanges non réciproques. Si notre structure de liaison correspond à une zone d'« effective-pairing » il faut admettre qu'une telle zone n'est pas obligatoirement le siège d'un mécanisme de type crossing-over (FORBES, 1956 ; FREESE, 1957 ; PATEMAN, 1960).

La question de la localisation des zones d'échange n'est pas résolue : si elles correspondent aux structures de liaison, elles doivent pouvoir se produire en de nombreux points du chromosome, ce qui peut donner l'impression, comme le suggère PRITCHARD (1960), qu'elles se produisent au hasard. D'autre part, ces zones ne sont décelables que lorsqu'elles sont judicieusement marquées ; alors ne faudrait-il pas admettre que l'existence de sites mutants, ou, d'une manière plus générale, la concentration de l'hétérozygotie dans un très court segment, conduit à un accroissement des recombinaisons, comme le suggèrent PONTECORVO (1958) et HERSHEY (1958). On comprendrait ainsi les résultats différents obtenus par CALEF (1957), selon qu'il utilise les méthodes « sélective » et « non sélective » ; on comprendrait également nos résultats (*Deuxième partie*, chap. II) : la distance entre deux sites est plus grande lorsqu'on la calcule directement que lorsqu'on l'estime à partir des croisements *sauvage* $\times$ *mutant*. CALEF envisage un « accroissement de la longueur dû à la sélection » ; nous sommes amenés à imaginer un accroissement de la distance due à l'hétérozygotie. Ces deux notions sont-elles différentes ? Il est trop tôt pour

pousser plus loin cette analyse, mais, dès maintenant, nous ne devons pas exclure l'idée que, dans l'interférence négative, les sites mutants interviennent non seulement par leur nombre, mais aussi par leur position ou leur nature.

Quoi qu'il en soit, il est acquis que les échanges multiples et la coïncidence supérieure à 1 sont des effets secondaires d'un mécanisme lié à la structure fine et à la replication du matériel génétique. Les structures de liaison joueraient le rôle essentiel ; on peut les considérer comme des « zones d'appariement » au niveau desquelles les échanges, réciproques ou non, ont une fréquence accrue.

IV. — CONCLUSIONS GÉNÉRALES

En entreprenant les recherches qui font l'objet du présent mémoire, nous nous fixions deux buts qui semblaient pouvoir être atteints avec l'organisme que nous utilisions. Le premier était de démontrer l'existence d'une *unité génétique* comparable à l'*unité biochimique* du matériel héréditaire : la *molécule d'A. D. N.* Le second était de contribuer, selon les termes de CRICK, à réduire « l'abîme dans notre connaissance de la structure du chromosome, une fois dépassé le stade moléculaire ». Il était clair que ce second objectif ne deviendrait accessible qu'une fois le premier atteint au moins partiellement.

Nous avons effectivement reconnu l'existence, par l'étude des recombinaisons, d'une unité génétique originale : le *polaron*. C'est un segment chromosomique linéaire qui peut comporter de nombreux sites. Il ne subit que des échanges non réciproques (conversions) que l'on interprète sans difficulté comme des changements de modèle (*copy-choice*) suivis d'une double replication. Le polaron ne peut subir qu'un seul de ces événements. La replication s'initie toujours à partir de la même extrémité, et, lorsqu'un changement de modèle se produit, la double replication qui lui fait suite se poursuit sans interruption jusqu'à l'extrémité opposée. Ces dernières propriétés confèrent au polaron son caractère le plus spécifique : la *polarité*.

Le polaron possède les propriétés essentielles reconnues ou prévues à la « particule » d'A. D. N. du « modèle linéaire duplex » de FREESE et TAYLOR, le caractère « duplex » étant étayé chez *Ascobolus* par l'existence, dans certains cas, de ségrégations impaires, c'est-à-dire de polarons hétérozygotes. Il est impossible à FREESE ou TAYLOR d'affirmer que leurs « particules » sont des molécules : nous sommes tenu à la même réserve en ce qui concerne le polaron.

Le polaron décelé dans le matériel génétique correspondant à la série 46 ne représente pas la totalité de ce matériel que nous considérons comme un gène au sens habituel du terme. Ce gène serait constitué au moins par deux polarons contigus réunis par une structure de liaison. C'est sur cette structure de liaison que se produisent exclusivement les échanges réciproques, les crossing-over. Cette région sert également de relais lors de la replication, et il y a tout lieu de penser qu'elle contribue à limiter les changements de modèle à des segments chromosomiques courts. La structure de liaison ne s'oppose cependant pas toujours à la poursuite de la double replication qui peut progresser, sans changement de polarité, sur les deux polarons contigus.

Notre structure de liaison possède donc des analogies évidentes et très probablement plus que des analogies avec les liaisons imaginées par FREESE et TAYLOR. C'est, dans l'un et l'autre cas, en ces points qu'interviennent les crossing-over, et les structures de liaison pas plus que les « protein links » ne s'opposent à la progression de la replication sans changement de polarité sur plusieurs unités contiguës.

Avec deux éléments différents seulement, « particule d'A. D. N. » et « protein links », TAYLOR a construit un « modèle » qui a l'ambition de rendre compte de la structure linéaire du chromosome entier. Les faits que nous rapportons, obtenus par des voies entièrement différentes, sont, pour la plupart, conformes à ce « modèle ». Ils ne concernent cependant que le matériel génétique correspondant à une série de mutants, donc un segment très court, et de nouvelles recherches sont nécessaires pour vérifier si la structure génétique mise en évidence s'applique au chromosome entier.

La bonne correspondance de la plupart de nos résultats avec le « modèle linéaire duplex » ne signifie pas que nous ayons, dès maintenant, vérifié toutes ses propriétés, mais cette vérification peut être poursuivie. Certaines des observations faites ne cadrent pas d'une manière très satisfaisante avec le « modèle ». C'est notamment le cas de l'existence avec une fréquence non négligeable de ségrégations 7 : 1 liées à la participation de certains mutants seulement. On peut espérer que de telles observations permettront de parfaire l'hypothèse pour la rapprocher de la réalité.

Dépassant le stade de la comparaison directe des faits génétiques au modèle théorique, nous avons pu préciser quelques points qui présentent un réel intérêt :

— Crossing-over et conversion diffèrent non seulement par leur localisation et par le caractère réciproque ou non des échanges auxquels ils conduisent, mais également par leur sensibilité très différente aux variations de la température. Nous avons donc tendance à les considérer comme des mécanismes fondamentalement différents, mais cette conception est tempérée par l'existence d'événements, se situant à la structure de liaison ou près d'elle, et qu'on peut au moins momentanément envisager soit comme des conversions, soit comme des demi-crossing-over.

— Un point important, et jusqu'ici inexpliqué, est l'augmentation de la fréquence des échanges avec le degré d'hétérozygotie. Cet accroissement est particulièrement important au niveau de la structure de liaison qui joue un rôle capital dans l'existence d'événements doubles et peut-être même d'événements multiples. L'interférence négative est en relation directe avec l'existence de cette structure; plusieurs indications tendent à montrer également que, dans ce phénomène complexe, la place des sites mutants sur les polarons et probablement leur nature sont des facteurs importants.

— Enfin, le groupement des sites mutants dans certaines régions du segment chromosomique étudié, déjà signalé dans des matériaux divers (« hot spots »), se présente chez *Ascobolus* sous une forme précise qu'on retrouve dans les diverses séries étudiées. Les sites mutants paraissent tous localisés au voisinage des extrémités des polarons, c'est-à-dire de part et d'autre et très près de la structure de liaison. Il se pourrait évidemment que la carte des sites donne une idée très fausse de leur répartition réelle : il suffirait pour cela que les diverses régions d'un même polaron n'offrent pas la même probabilité de changement de modèle et que la zone centrale soit une zone de rupture maximale. De toute façon, un problème intéressant est posé et mériterait d'être résolu.

Nous avons comparé assez longuement nos résultats avec le modèle de TAYLOR et FREESE relatif à la structure du chromosome. Nous n'ignorons pas qu'une autre comparaison très importante mériterait d'être tentée : la correspondance entre nos unités et l'unité fonctionnelle, le *cistron*. Notre matériel peut le permettre, une fois mises au point les techniques nécessaires : nous nous en préoccupons.

RÉSUMÉ

Chez *Ascobolus immersus*, la connaissance des relations entre mutants à spores blanches est rendue possible par la facilité avec laquelle on décèle, dans une descendance, les tétrades parentales (huit spores blanches), les tétrades recombinées (quatre spores noires et quatre spores blanches) et les tétratypés (six spores blanches et deux spores noires).

1^o Plus de 2 000 mutants de ce type, spontanés, monogéniques et d'origine indépendante, ont été isolés. Ce qui ressort le plus nettement de l'étude de leurs relations, c'est leur groupement en *séries*. Une série comprend tous ceux qui, croisés deux à deux, fournissent une descendance soit uniformément blanche (homo-allèles), soit contenant une énorme majorité d'asques à huit spores blanches et quelques rares ou très rares asques à six spores blanches et deux spores noires. La quasi-totalité des mutants à spores blanches se répartit en une trentaine de séries correspondant à autant de *loci* complexes.

2^o Notre étude a porté plus spécialement sur huit mutants appartenant à la série 46. L'un correspond probablement à une déficience ; l'analyse génétique des sept autres a comporté, tout d'abord, la détermination des fréquences des asques à recombinants sauvages obtenus dans les divers croisements ; ces fréquences permettent de disposer les sites linéairement sur un segment chromosomique.

3^o L'analyse de cent trente tétrades 6 : 2, prélevées au hasard dans la descendance des croisements intéressant six de ces mutants, montre qu'aucun de ces asques ne contient de recombinants double-mutants à côté des recombinants sauvages. Chacun d'eux correspond à une ségrégation 2 : 2 pour l'un des mutants et 3 : 1 pour l'autre. Dans un même croisement, la ségrégation 1 : 3 correspond toujours au même mutant, et c'est toujours l'allèle sauvage qui est représenté trois fois. Le couple de sites qui subit la ségrégation 3 : 1 est toujours celui qui occupe la position la plus à droite sur la carte, ceci naturellement par rapport au sens arbitraire initialement adopté dans la construction de celle-ci.

Ainsi, dans le segment chromosomique portant ces sites, la recombinaison ne s'opère pas selon le mécanisme classique de crossing-over, mais selon un mécanisme différent, vis-à-vis duquel le segment présente une polarité. Nous avons donc pu définir très clairement une nouvelle unité génétique, le *polaron*.

4° Des ségrégations 3 : 1 (six spores blanches et deux spores noires) et 1 : 3 (deux spores blanches et six spores noires) s'observent également dans les croisements *sauvage* × *mutant*. Les fréquences de ces asques varient selon les sites et dans l'ordre de la polarité.

5° Pour expliquer l'existence d'asques 6 : 2 produits dans les croisements entre deux mutants, ou celle des asques 3 : 1 et 1 : 3 issus des croisements *sauvage* × *mutant*, il suffit de faire appel au mécanisme de changement de modèle (« copy-choice ») au cours de la replication du matériel génétique; les recombinants résulteraient ainsi d'une *conversion*; la replication du polaron s'opérerait toujours à partir de la même extrémité et un même polaron ne pourrait subir qu'une seule conversion.

6° Le dernier des mutants étudiés, croisé avec les précédents, a fourni deux sortes d'asques 6 : 2; certains résultent encore de conversions, mais les autres proviennent de crossing-over. L'existence de ceux-ci montre que le site correspondant à ce mutant ne s'intègre pas au polaron défini plus haut. Le segment chromosomique représentant la série entière paraît ainsi constitué par deux polarons contigus séparés par une *structure de liaison* sur laquelle se localisent les crossing-over. Les caractéristiques des asques avec conversion se comprennent aisément si la polarité se poursuit sans changement sur la totalité du segment chromosomique.

Ces croisements fournissent également quelques rares asques 7 : 1 correspondant à une ségrégation impaire 5 : 3 pour le site envisagé.

7° Des asques 6 : 2 ont été obtenus également à partir d'hétérozygotes pour trois couples de sites. La fréquence de ces tétrades, dont la formation nécessite deux événements, est anormalement élevée : elle traduit une très forte *interférence négative*. Cette interférence, mesurée dans deux croisements différents intéressant le même segment, varie selon la position du site intermédiaire. Les doubles événements correspondent à deux conversions intéressant la même chromatide, la première se situant sur le premier polaron, la seconde à la structure de liaison ou près d'elle, sur le deuxième polaron.

8° La structure de liaison présente trois propriétés essentielles : elle est le siège des crossing-over, elle peut servir de relais pour la replication, enfin elle permet ou favorise les doubles événements.

9° Les variations des fréquences de crossing-over et de conversion en

fonction de la température se traduisent par des Q_{10} très différents (5 pour la conversion et 2 pour le crossing-over).

10° La discussion porte sur les points suivants : particularité et comparaison des deux mécanismes de recombinaison, comparaison des éléments de la structure génétique reconnue chez *Ascobolus* (polarons et structures de liaison) avec les modèles biochimiques postulés pour la structure du chromosome, interprétation de l'interférence négative.

PLANCHE

LÉGENDE

DIVERS TYPES D'ASQUES CHEZ *ASCOBOLUS IMMERSUS*

A, Apothécie écrasée montrant des asques jeunes et des asques proéminents prêts à expulser leurs spores (forme sauvage);

B, ascospore germant par plusieurs pores germinatifs;

C, D, E, divers types d'asques produits par le croisement de deux mutants différents à spores blanches (C : ditype parental 8:0; D : tétratypé 6:2; E, : ditype recombiné 4:4);

F, disposition des tétrades telles qu'on les observe après projection sur un écran (ici croisement *sauvage* $\times$ *mutant*).



BIBLIOGRAPHIE

- BEADLE (G. W.). — 1957. The role of the nucleus in heredity (in *Chemical Basis of Heredity*, Johns Hopkins Press, Baltimore, 2-22).
- BENZER (S.). — 1955. Fine structure of a genetic region in bacteriophage (*Proc. Nat. Acad. Sc., Wash.*, **41**, 344-354).
- BENZER (S.). — 1957. The elementary units of Heredity (in *Chemical Basis of Heredity*, Johns Hopkins Press, Baltimore, 70-93).
- BETTS (E. M.). — 1926. Heterothallism in *Ascobolus carbonarius* (*Amer. J. Bot.*, **13**, 427-432).
- BETTS (E. M.) et MEYER (S. L.). — 1939. Heterothallism and segregation of sex in *Ascobolus geophilus* (*Amer. J. Bot.*, **26**, 617-619).
- BISTIS (G.) et OLIVE (L. S.). — 1954. Ascomycete spore mutant and their use in genetic studies (*Science*, **120**, 105-106).
- BISTIS (G.). — 1956. Studies on the genetics of *Ascobolus stercorarius*. Schrot. (*Bull. Tor. Bot. Club*, **83**, 35-61).
- BONNER (D.). — 1956. The genetic unit (*Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **21**, 163-170).
- BRIDGES (C. B.). — 1936. Bar as a duplication (*Science*, **83**, 210-211).
- BRINK (R. A.). — 1958. The genetic basis of a transallelic change occurring invariably in certain maize heterozygotes (*Proc. 10th Int. Congr. Genet.*, Montreal, **2**, 34-35).
- BROWN (S. W.) et ZOHARY (D.). — 1955. The relationship of chiasmata and crossing-over in *Lilium formosanum* (*Genetics*, **40**, 850-873).
- CALEF (E.). — 1957. Effect on linkage maps of selection of crossovers between closely linked markers (*Heredity*, **11**, 265-279).
- CARLSON (E. A.). — 1959. Comparative genetics of complex loci (*The Quarterly Review of Biology*, **34**, 33-67).
- CASE (M. E.) et GILES (N. H.). — 1958. Evidence from tetrad analysis for both normal and aberrant recombination between allelic mutants in *Neurospora crassa* (*Proc. Nat. Acad. Sc., Wash.*, **44**, 378-390). — 1958. Recombination mechanisms at the *pan-2* locus in *Neurospora* (*Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **23**, 119-135).
- CHASE (M.) et DOERMANN (A. H.). — 1958. High negative interference over short segments of the genetic structure of Bactériophage T 4 (*Genetics*, **43**, 332-353).
- COE (E. H. Tr.). — 1958. A continuing, non-reverting conversion-type phenomenon at the *B* locus in maize (*Proc. 10th Int. Congr. Genet.*, Montreal, **2**, 55).
- CREIGHTON (H. B.) et McCLINTOCK (B.). — 1931. A correlation of cytological and genetical crossing-over in *Zea mays* (*Proc. Nat. Acad. Sc., Wash.*, **17**, 492-497).
- CRICK (F. H. C.). — 1955. Discussion of paper by D. SCHWARTZ (*J. Cell. Comp. Physiol.*, **45**, Suppl. 2, 184).
- DARLINGTON (C. D.). — 1937. *Recent advances in Cytology* (2^e éd., London). — 1935. The time, place and action of crossing-over (*J. Genet.*, **31**, 185-212).
- DEMEREK (M.). — 1928. The behavior of mutable genes (*Proc. 5th Int. Congr. Genet., Berlin 1927*, **1**, 183-193). — 1954. What is a gene twenty years later (*Amer. Nat.*, **89**, 5-20). — 1956. A comparative study of certain gene loci in *Salmonella* (*Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **21**, 113-122).
- DEMEREK (M.), BLOMSTRAND (I.) et DEMEREK (Z. E.). — 1955. Evidence of complex loci in *Salmonella* (*Proc. Nat. Acad. Sc., Wash.*, **41**, 359-364).
- DE SERRES (F. J.). — 1958. Recombination and interference negative in the *ad-3* region of *Neurospora crassa* (*Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **23**, 111-118).

- DODGE (B. O.). — 1920. The life history of *Ascobolus magnificus* (*Mycologia*, **12**, 115-134). — 1940. Second division segregation and crossing-over in the fungi (*Bull. Tor. Bot. Club*, **67**, 467-476).
- DODGE (B. O.) et SEAVER (F. J.). — 1946. Species of *Ascobolus* for genetic study (*Mycologia*, **38**, 639-651).
- DOTY (P.), MARMON (J.), EIGNER (J.) et SCHILDKRAUT (C.). — 1960. Strand separation and specific recombination in deoxyribonucleic acids physical chemical studies (*Proc. Nat. Acad. Sc., Wash.*, **46**, 461-476).
- DUBININ (N. P.). — 1933. Step allelomorphism in *Drosophila melanogaster* (*J. Genet.*, **443-464**).
- FORBES (E. C.). — 1956. Recombination in the *pro* region of *Aspergillus nidulans* (*Microb. Genet. Bull.*, **13**, 9-11).
- FRESE (E.). — 1957. The correlation effect for a histidine locus of *Neurospora crassa* (*Genetics*, **42**, 671-684). — 1958. The arrangement of D. N. A. in the chromosome (*Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **23**, 13-18).
- GALL (J. G.). — 1959. Macronuclear duplication in the ciliated Protozoan Euplotes (*J. Biophys. Biochem. Cyt.*, **5**, 295-308).
- GILES (N. H.). — 1958. Mutations at specific loci in *Neurospora* (*Proc. 10th Int. Congr. Genet.*, Montreal, 261-279).
- GILES (N. H.), DE SERRES (F. J.) et BARBOUR (E.). — 1957. Studies with purple adenine mutants in *Neurospora crassa*. II : Tetrad analyses from a cross of an *ad-3 A* mutant with an *ad-3 B* mutant (*Genetics*, **42**, 608-617).
- GLASS (B.). — 1957. A summary of the symposium in *Chemical Basis of Heredity* (Johns Hopkins Press, Baltimore, 757-834).
- GOLDSCHMIDT (R.). — 1955. *Theoretical Genetics*, University of California Press, Berkeley. — 1957. On some phenomena in *Drosophila* related to so-called gene conversion (*Proc. Nat. Acad. Sc., Wash.*, **43**, 1019-1026).
- GREEN (M. M.). — 1955. Pseudoallelism and gene concept (*Amer. Nat.*, **89**, 65-71).
- GREEN (M. M.) et GREEN (K. C.). — 1956. A cytogenetic analysis of the lozenge pseudoalleles (*Z. ind. Abst. Vererb.*, **87**, 708-721).
- HALDANE (J. B. S.). — 1931. The cytological basis of genetical interference (*Cytologia*, **3**, 54-56).
- HARTMAN (P. E.). — 1956. Linked loci in the control of consecutive steps in primary pathway of histidine synthesis in *Salmonella typhimurium* (*Carnegie Inst., Wash., Publ.* **612**, 35-62).
- HERSHEY (A. D.). — 1958. Production of recombinants in phage crosses (*Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **23**, 19-46).
- HOWARD (A.) et PELC (S. R.). — 1951. Nuclear incorporation of P³² as demonstrated by autoradiographs (*Exp. Cell. Res.*, **2**, 178-187).
- JACOB (F.) et WOLLMAN (E. J.). — 1958. Genetic and physical determination of chromosomal segments in *Escherichia coli* (*Symp. Soc. exp. Biol.*, **12**, 75-91).
- KACSER (H.). — 1956. Molecule organisation of genetic material (*Science*, **124**, 151-154).
- LEDERBERG (J.). — 1955. Recombination mechanisms in Bacteria (*J. Cell. comp. Physiol.*, **45**, Suppl. **2**, 75-107).
- LE GAL (M.). — 1947. Recherches sur les ornements sporales des Discomycètes operculés (*Ann. Sc. Nat.*, 11^e série, Bot., 73-297).
- LEUPOLD (U.). — 1958. Studies on recombination in *Schizosaccharomyces pombe* (*Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **23**, 161-169).
- LEVINTHAL (C.). — 1954. Recombination in phage T 2 : its relationship to heterozygosis and growth (*Genetics*, **39**, 169-184). — 1956. The mechanism of D. N. A. replication and genetic recombination in phage (*Proc. Nat. Acad. Sc., Wash.*, **42**, 394-402).
- LEVINTHAL (C.) et CRANE (H. R.). — 1956. On the unwinding of D. N. A. (*Proc. Nat. Acad. Sc., Wash.*, **42**, 436-438).
- LEWIS (E. B.). — 1945. The relation of repeats to position effect in *Drosophila melanogaster* (*Genetics*, **30**, 137-166). — 1951. Pseudoallelism and gene evolution (*Cold*

- Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **16**, 159-174). — 1955. Some aspects of position pseudoallelism (*Amer. Nat.*, **89**, 73-89).
- LINDEGREN (C. C.). — 1953. Gene conversion in *Saccharomyces* (*J. Genet.*, **51**, 625-647). — 1955. Non-mendelian segregation in a single tetrad of *Saccharomyces* ascribed to gene conversion (*Science*, **121**, 605-607).
- LISSOUBA (P.) et RIZET (G.). — 1960. Sur l'existence d'une unité génétique polarisée ne subissant que des échanges non réciproques (*C. R. Acad. Sc.*, **250**, 3408-3410).
- MAZIA (D.). — 1954. The particulate organisation of chromosome (*Proc. Nat. Acad. Sc., Wash.*, **40**, 521-527).
- MESELSON (M.) et STAHL (F. W.). — 1958. The replication of D. N. A. in *Escherichia coli* (*Proc. Nat. Acad. Sc., Wash.*, **44**, 671-682).
- MITCHELL (M. B.). — 1955. Aberrant recombination of pyridoxine mutants of *Neurospora* (*Proc. Nat. Acad. Sc., Wash.*, **41**, 215-220). — 1955. Further evidence of aberrant recombination in *Neurospora* (*Proc. Nat. Acad. Sc., Wash.*, **41**, 935-937). — 1956. A consideration of aberrant recombination in *Neurospora* (*C. R. Lab. Carlsberg, Ser. Physiol.*, **26**, 285-298).
- MITCHELL (H. K.). — 1957. Crossing-over and gene conversion in *Neurospora* (in *Chemical Basis of Heredity*, Johns Hopkins Press, Baltimore, 94-113).
- MITRA (S.). — 1958. Effects of X-rays on chromosomes of *Lilium longiflorum* during meiosis (*Genetics*, **43**, 771-789).
- MORGAN (T. H.). — 1926. *The theory of the gene*, Yale Univ. Press, New Haven.
- MOSES (M. J.) et TAYLOR (J. H.). — 1955. Desoxypentose nucleic acid synthesis during microsporogenesis in *Tradescantia* (*Exp. Cell. Res.*, **9**, 474-488).
- MULLER (J. H.). — 1928. The problem of genic modification (*Proc. 5th Int. Congr. Genet.* Berlin, 1927, 234-260).
- OLIVE (L. S.). — 1959. Aberrant tetrads in *Sordaria fimicola* (*Proc. Nat. Acad. Sc., Wash.*, **45**, 727-732).
- PATEMAN (J. A.). — 1960. High negative interference at *am* locus of *Neurospora crassa* (*Genetics*, **45**, 839-846).
- PLAUT (W.) et MAZIA (D.). — 1956. The distribution of newly synthesised D. N. A. in mitotic division (*J. Biophys. Biochem. Cyt.*, **2**, 573-588).
- PONTECORVO (G.). — 1952. The genetic formulation of gene structure and action (*Advances in Enzymology*, **13**, 121-149). — 1958. *Trends in genetic analysis*, Columbia Univ. Press, New-York.
- PRITCHARD (R. H.). — 1955. The linear arrangement of a serie of alleles of *Aspergillus nidulans* (*Heredity*, **9**, 343-371). — 1959. Localized negative interference and its bearing on models of gene recombination (*J. Genet. Res.*, **1**, 1-24). — 1960. The bearing of recombination analysis at high resolution on genetic fine structure in *Aspergillus nidulans* and the mechanism of recombination in high organisms (in *the tenth symposium of the Society for general Microbiology*, University Press, Cambridge, 155-180).
- RIZET (G.). — 1939. Sur les spores dimorphes et l'hérédité de leur caractère chez un nouvel *Ascobolus* hétérothallique (*C. R. Acad. Sc.*, **208**, 1669-1671).
- RIZET (G.), LEFORT (C.), ENGELMANN (N.), LISSOUBA (P.) et MOUSSEAU (J.). — 1960. Sur un ascomycète intéressant pour l'étude de certains aspects du problème de la structure du genre (*C. R. Acad. Sc.*, **250**, 2050-2052).
- RIZET (G.), LISSOUBA (P.) et MOUSSEAU (J.). — 1960. Sur l'interférence négative au sein d'une série d'allèles chez *Ascobolus immersus* (*C. R. Soc. Biol.*, **11**, sous presse). — 1961. Les mutations d'ascospores chez l'Ascomycète *Ascobolus immersus* et l'analyse de la structure fine des gènes (*Bull. Soc. Fr. Physiol. Vég.*, **6**, sous presse).
- ROMAN (H.). — 1956. Studies of gene mutation in *Saccharomyces* (*Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **21**, 175-186). — 1958. Sur les recombinaisons non réciproques chez *Saccharomyces cerevisiae* et sur les problèmes posés par ces phénomènes (*Ann. Genet.*, **1**, 11-17).
- ROMAN (H.) et JACOB (F.). — 1958. A comparaison of spontaneous and ultra-violet-

- induced allelic recombination with reference to the recombination of outside markers (*Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **23**, 155-160).
- SCHWARTZ (D.). — 1955. Studies on crossing-over in maize and *Drosophila* (*J. Cell. Comp. Physiol.*, **45**, suppl. 2, 171-188). — 1958. Deoxyribonucleic acid side chain model of the chromosome (*Nature*, London, **181**, 1149-1150).
- SERRA (J. A.). — 1958. Chromosomal units of genetic determination. IV. Explanation of conversion (*Rev. Portug. Zool. Biol. Ger.*, **1**, 273-291).
- STADLER (D. R.). — 1958. Gene conversion of cysteine mutants in *Neurospora* (*Proc. Nat. Acad. Sc., Wash.*, 647-655).
- STERN (C.). — 1931. Zytologisch-genetische Untersuchungen als Beweise für die Morgansche Theorie des Faktorenaustauschs (*Biol. Zbl.*, **51**, 547).
- STRICKLAND (W. N.). — 1958. Abnormal tetrads in *Aspergillus nidulans* (*Proc. Roy. Soc., B*, **148**, 533-542). — 1958. An analysis of interference in *Aspergillus nidulans* (*Proc. Roy. Soc., B*, **149**, 82-101).
- ST-LAURENCE (P.) et BONNER (D. M.). — 1957. Gene conversion and problems of allelisms (in *Chemical Basis of Heredity*, Johns Hopkins Press, Baltimore, 114-122).
- TAYLOR (J. H.). — 1953. Autoradiographic detection of incorporation of P³² into chromosome during meiosis and mitosis (*Exp. Cell. Res.*, **4**, 164-173). — 1957. The time and mode of duplication of chromosome (*Amer. Nat.*, **91**, 209-221).
- TAYLOR (J. H.). — 1958. The organization and duplication of genetic material (*Proc. 10th Int. Genet. Congr.*, **2**, 63-78). — 1960. Asynchronous duplication of chromosome in cultured cells of chinese Hamster (*J. Biophys. Biochem. Cyt.*, **7**, 455-463).
- THOMPSON (D. H.). — 1931. The side chain theory of structure of the gene (*Genetics*, **16**, 267-290).
- WATSON (J. D.) et CRICK (F. H. C.). — 1953. The structure of D. N. A. (*Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **18**, 123-131).
- WINGE (O.). — 1955. On interallelic crossing-over (*Heredity*, **9**, 373-384).
- WINKLER (H.). — 1932. Die Konversion der Gene (Gustav Fischer Verlag, Iena).

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté :

ÉTUDE GÉNÉTIQUE ET CYTOGÉNÉTIQUE DU GENRE *GOSSYPIUM*

Vu et approuvé :

Paris, le 8 mai 1961.

Le Doyen de la Faculté des Sciences :

J. PÉRÈS

Vu

et Permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie

de Paris

Jean SARRAILH

